

Contribution à l'étude d'une erreur
congénitale du Métabolisme :

Le déficit en Glucose 6 Phosphate Déshydrogénase

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 21 décembre 1961

POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jean DUCAS

Lauréat de la Faculté

Interne des Hôpitaux de Nancy

Né le 9 Octobre 1932, à LILLE (Nord)

Examineurs de la Thèse :	{	MM. N.NEIMANN, Professeur	Président.
		KISSEL, Professeur	Juges.
		DE LAVERGNE, Maître de Conférence agrégé	
		PIERSON, Professeur agrégé	

NANCY

IMPRIMERIE GEORGES THOMAS

Angle des rues de Solignac et Henri-Lepage

1961

Contribution à l'étude d'une erreur
congénitale du Métabolisme :

Le déficit en Glucose 6 Phosphate Déshydrogénase

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 21 décembre 1961

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jean DUCAS

Lauréat de la Faculté

Interne des Hôpitaux de Nancy

Né le 9 Octobre 1932, à LILLE (Nord)



Examineurs de la Thèse :	{	MM. N. NEIMANN, Professeur	Président.
		KISSEL, Professeur	Juges.
		DE LAVERGNE, Maître de Conférence agrégé	
		PIERSON, Professeur agrégé	

NANCY

IMPRIMERIE GEORGES THOMAS

Angle des rues de Solignac et Henri-Lepage

1961

Université de Nancy - Faculté de Médecine

Doyen: M. A. BEAU

Assesseur: N...

Doyens Honoraires

MM. LUCIEN, MERKLEN et Jacques PARISOT

Professeurs Honoraires

MM. BOUIN, ANCEL, JACQUES, JEANDELIZE, FRUHHINSHOLZ, SANTENOISE,
CHAILLEY-BERT, HAMANT, BINET, ABEL, CAUSSADE, MUTEL, FRANCK.

PROFESSEURS:

Anatomie	M. BEAU.
Anatomie pathologique	M. FLORENTIN.
Bactériologie et parasitologie	M. HELLUY.
Chimie biologique	M. WOLFF.
Clinique chirurgicale A	M. CHALNOT.
Clinique chirurgicale B	M. BODART.
Clinique gynécologique	M. BERTRAND.
Clinique médicale A	M. MICHON P.
Clinique médicale B	M. KISSEL.
Clinique médicale infantile	M. NEIMANN.
Clinique obstétricale	N...
Clinique ophtalmologique	M. THOMAS.
Clinique oto-rhino-laryngologique	M. GRIMAUD.
Clinique stomatologique	M. GOSSEREZ.
Clinique de la tuberculose	M. LAMY.
Clinique des voies urinaires	M. GUILLEMIN.
Electro-radiologie clinique	M. ROUSSEL.
Embryologie	M. DOLLANDER.
Histologie	M. LEGAIT.
Hydrologie Thérapeutique et Climatologie	M. MERKLEN.
Hygiène et Médecine sociale	N...
Médecine légale	M. HEULLY.
Médecine du travail et réadaptation profession- nelle et sociale	M. PIERQUIN.
Pathologie chirurgicale	M. LOCHARD.
Pathologie médicale	M. HERBEUVAL.
Physiologie	M. ARNOULD P.
Physio-pathologie respiratoire	M. SADOUL.
Physique	M. BURG.
Stomatologie	M. HOUPERT.
Thérapeutique	M. LOUYOT.

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL

Physiologie	M. GRANDPIERRE.
-------------------	-----------------

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie pathologique	M. RAUBER.
Obstétrique	M. HARTEMANN J.

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS

Anatomie	M. CAYOTTE.
Bactériologie	M. DE LAVERGNE.
Carcinologie	M. CHARDOT.
Chimie	M. PAYSANT.
Histologie	M. GRIGNON.
Hygiène	M. SENAULT.
Médecine	M. DEBRY.
Pathologie expérimentale	M. HARTEMANN P.
Pharmacologie	M. LACOSTE.
Physique	M. LAMARCHE.
Physiologie	M. MARTIN.
	M. BOULANGÉ.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

Chirurgie	M. BENICHOUX.
Chirurgie	M. SOMMELET.
Chirurgie	M. MICHON J.
Chirurgie	M. GROSDDIER.
Chirurgie	M. VICHARD.
Dermatologie	M. BEUREY.
Médecine	M. FAIVRE.
Médecine	M. DUREUX.
Médecine	M. SCHMITT J.
Médecine	M. LARCAN.
Médecine légale et médecine du travail	M. PERNOT.
Neurologie et psychiatrie	M. ARNOULD G.
Neurologie et psychiatrie	M. TRIDON.
Neuro-chirurgie	M. LEPOIRE.
Obstétrique	M. RIBON.
Ophthalmologie	M. ALGAN.
Oto-rhino-laryngologie	M. WAYOFF.
Pédiatrie et puériculture	M. PIERSON M.
Pédiatrie et puériculture	M. MANCIAUX.

CHARGÉS DE COURS

Anatomie	M. PRÉVOT.
Cardiologie	M. FAIVRE.
Chirurgie et orthopédie infantiles	M. BEAU.
Gériatrie	M. HERBEUVAL.
Hématologie et transfusion sanguine	M. STREIFF.
Maladies infectieuses	M. GERBAUT.
Maladies mentales	M. HACQUARD.
Médecine expérimentale	M. SADOUL.
Ophthalmologie	M. CORDIER.
Pathologie obstétricale	M. HARTEMANN J.
Physiologie obstétricale	M. RICHON.
Psychiatrie infantile	M. TRIDON.
Psychologie	M. LAXENAIRE.
Sémiologie et Propédeutique chirurgicales	M. ANDRÉ, agrégé libre.

AGRÉGÉS LIBRES

Chirurgie	M. ARNULF.
Chirurgie	M. ANDRÉ.
Chirurgie	M. RICHON.
Obstétrique	M. CORDIER.
Ophtalmologie	

Secrétaire: M. SEUROT.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend ni les approuver, ni les imputer.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A notre Maître et Président de Thèse

MONSIEUR LE PROFESSEUR N. NEIMANN

Professeur de Clinique Médicale Infantile

Nous sommes fier de compter parmi ses élèves. Nous profitons chaque jour de la clarté de son enseignement, et de la finesse de son sens clinique. Ses qualités humaines, sa modestie et son dévouement sans limite à l'égard des enfants malades, forcent l'admiration et le respect. C'est son exemple qui nous a donné le goût de la pédiatrie.

Nous ne lui témoignerons jamais assez notre reconnaissance pour l'honneur et la confiance qu'il nous a faits en nous accueillant dans son service. Qu'il soit assuré de notre sincère dévouement et de notre respectueux attachement.

A nos Juges

MONSIEUR LE PROFESSEUR KISSEL

Professeur de Clinique Médicale
Chevalier de la Légion d'Honneur

Nous lui sommes très reconnaissant de la bienveillance qu'il nous a toujours témoignée. Nous garderons éternellement, le souvenir de son incomparable enseignement au lit du malade. Au cours de notre année d'Internat passée dans son service, nous avons pu apprécier sa vaste culture et sa grande bonté. Qu'il soit assuré de notre respectueuse gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ DE LAVERGNE

Maître de Conférences, Agrégé de Bactériologie.

Nous avons retrouvé en lui les qualités qui nous avaient attaché à son regretté Père, le Professeur VEZEAUX de LAVERGNE, dont nous sommes fier d'avoir été l'Externe.

Nous tenons à lui exprimer notre sincère reconnaissance pour l'intérêt qu'il nous a témoigné, en acceptant de nous accueillir, pour ce travail, dans son laboratoire et pour les conseils qu'il nous a prodigués.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. PIERSON

Professeur Agrégé de Médecine Infantile

C'est pour nous un plaisir journallement renouvelé de passer la visite avec lui. Il nous fait profiter de sa grande culture, de sa bonne humeur proverbiale et de son enthousiasme. Qu'il trouve ici l'assurance de notre gratitude pour sa bienveillance à notre égard.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CAUSSADE

Professeur honoraire de Clinique Médicale Infantile
Officier de la Légion d'Honneur

Jeune Externe, nous avons eu la chance de bénéficier de son riche enseignement. Il nous a fait l'honneur de nous accorder son appui.

Nous lui exprimons nos sentiments de respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ROUSSEL

Professeur d'Electroradiologie médicale

Il nous a initié à la Radiologie et nous a fait bénéficier de ses vastes connaissances.

Nous lui en sommes vivement reconnaissant.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR WOLFF

Professeur de Chimie Biologique

MONSIEUR LE PROFESSEUR SOLEIL

Professeur de Pharmacie chimique à la Faculté de Pharmacie de Nancy

MONSIEUR LE PROFESSEUR PAYSANT

Maitre de Conférences, agrégé de Chimie

*Avec nos remerciements pour leurs précieux
conseils.*

*Aux Médecins du Laboratoire Central des Cliniques
et du Centre de Transfusion Sanguine de l'Hôpital Central*

en particulier à la mémoire du DOCTEUR REMIGY
qui nous honorait de son amitié.

Avec nos remerciements pour leur aide.

AU DOCTEUR ALLIMANT

Médecin Chef du Service de Médecine Infantile
de l'Hôpital Bonsecours de Metz

*Avec nos remerciements pour les observations
qu'il a eu l'obligeance de nous communiquer.*

AU DOCTEUR B. NOEL

Directeur du Centre de Transfusion sanguine de Metz

AU DOCTEUR STOESSEL

Avec nos remerciements pour leur collaboration.

A nos Maîtres dans les Hôpitaux

Externat :

MONSIEUR LE PROFESSEUR CHALNOT

MONSIEUR LE PROFESSEUR GIRARD (in memoriam)

MONSIEUR LE PROFESSEUR DROUET (in memoriam)

MONSIEUR LE PROFESSEUR CAUSSADE

MONSIEUR LE PROFESSEUR DE LAVERGNE (in memoriam)

MONSIEUR LE PROFESSEUR ARNOULD

Externat en Premier :

MONSIEUR LE PROFESSEUR GUILLEMIN

Internat :

MONSIEUR LE PROFESSEUR ROUSSEL

MONSIEUR LE PROFESSEUR NEIMANN

MONSIEUR LE PROFESSEUR KISSEL

En témoignage d'admiration et de reconnaissance.

Aux Médecins de la Clinique Médicale Infantile

MADAME LE DOCTEUR STEHLIN

Médecin Assistant des Hôpitaux

Avec nos sentiments respectueux.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ MANCIÀUX

MONSIEUR LE DOCTEUR LASCOMBES

Médecin Assistant des Hôpitaux

*qui nous a préparé à l'Internat avec beaucoup
de dévouement.*

MONSIEUR LE DOCTEUR GENTIN

Médecin Assistant des Hôpitaux

Avec toute notre amitié.

A MES PARENTS

A MA FEMME

En témoignage de mon amour et de ma reconnaissance pour l'aide très importante qu'elle m'a apportée dans ce travail grâce à ses connaissances scientifiques.

A MA FILLE VÉRONIQUE

A MES BEAUX-PARENTS

A MA GRAND'MÈRE

A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A MON ONCLE, le Docteur G. DUCAS

dont l'exemple a été à l'origine de ma vocation,

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

Je remercie tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail :

Le Personnel du Laboratoire Central et du Centre de Transfusion

Mesdemoiselles M. DUPONT et M. J. OLIVER

SERMENT

Sur ma conscience, en présence de mes Maîtres et de mes condisciples, je jure d'exercer la Médecine suivant les lois de la morale et de l'honneur, et de pratiquer scrupuleusement tous mes devoirs envers les malades, mes confrères et la Société.

INTRODUCTION

Les mécanismes responsables des accidents provoqués par les médicaments sont variés et parmi eux le « facteur individuel » joue un grand rôle que le terme d'idiosyncrasie désigne sans l'expliquer. Des travaux récents ont permis d'éclaircir sa nature dans le cas des anémies hémolytiques aiguës provoquées par certaines drogues ; il s'agit d'une erreur congénitale du métabolisme : le déficit des hématies en une enzyme de la glycolyse, la glucose 6 phosphate déshydrogénase. Le passage de la notion toute empirique de « facteur individuel » à celle « d'erreur congénitale du métabolisme » qui fait intervenir une pathogénie moléculaire est l'aboutissement de nombreuses recherches qui ont permis d'avancer, étape par étape, dans la connaissance de ce phénomène.

Ce sont ces recherches que nous détaillons *dans la première partie de ce travail*.

Le point de départ a été la recherche aux Etats-Unis d'un antipaludéen de synthèse, ne donnant pas d'accidents d'intolérance. L'expérimentation sur des volontaires a mis en évidence que la sensibilité aux antipaludéens était un facteur racial et a permis de reconnaître les différents paramètres de cette sensibilité. Des méthodes de laboratoire ont été mises au point pour diagnostiquer cette prédisposition à l'hémolyse, sans la provoquer par la prise d'antipaludéen. Ces méthodes, anodines, ont permis d'étudier non plus quelques volontaires, mais de très nombreux sujets appartenant à des races variées. Le déficit enzymatique a été retrouvé dans le monde entier ; d'après CARSON [48], il atteindrait près de cent millions d'individus, ce qui a permis des études génétiques et anthropologiques très intéressantes.

Le mécanisme intime de l'hémolyse provoquée par cette sensibilité aux drogues n'a été qu'en partie élucidé. Le déficit enzymatique est le plus souvent bien supporté, mais il entraîne une fragilisation des hématies que démasque la prise de drogues ou de certaines substances végétales. La liste des substances chimiques res-

pensables est longue ; il faut surtout citer les antipaludéens de synthèse, les sulfamides, la vitamine K₂, la phénacétine, le P.A.S. et la naphthaline. Parmi les substances végétales, la fève crue occupe la première place et l'hémolyse qu'elle entraîne réalise le favisme, dont la pathogénie longtemps si mystérieuse a pu, ainsi, être éclaircie.

Mais le déficit enzymatique peut avoir d'autres conséquences : il peut entraîner une hémolyse chronique, réalisant une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire ; il peut entraîner des ictères graves néonataux ou des ictères nucléaires. Ces dernières complications sont la conséquence du déficit enzymatique dans d'autres tissus que le sang, en particulier dans le foie.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous présentons les résultats de nos recherches personnelles faites pendant les années 1960 et 1961, en utilisant une méthode permettant la recherche indirecte du déficit en glucose 6 phosphate déshydrogénase : le test de stabilité du glutathion réduit de BEUTLER. Nous l'avons pratiquée chez 147 sujets et avons pu mettre en évidence le déficit enzymatique chez 10 d'entre eux. Il s'agissait de sujets d'origine Sarde, appartenant à des familles émigrées en Lorraine : un était atteint de favisme, un de méthémoglobinémie congénitale, 4 appartenaient à la famille de ce dernier et 4 étaient des donneurs de sang en bonne santé.

Nous n'avons pas retrouvé le déficit enzymatique dans d'autres hémopathies, en particulier dans des anémies hémolytiques congénitales non sphérocytaires et dans des ictères néonataux inexpliqués.

PREMIERE PARTIE

REVUE GÉNÉRALE

CHAPITRE PREMIER

L'Anémie hémolytique provoquée par la Primaquine

INTRODUCTION ET HISTORIQUE

La Primaquine est un antipaludéen dont l'emploi se complique d'anémies aiguës [102], chez les sujets qui ont un déficit érythrocytaire en glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G.6P.D.). L'anémie qu'elle réalise mérite, pour deux raisons, de servir de type de description pour l'ensemble des anémies hémolytiques provoquées par certains médicaments chez les sujets enzymopéniques :

— cliniquement elle réalise un tableau assez monomorphe que l'on retrouve pour les autres anémies médicamenteuses (tout au moins dans leurs formes modérées) ;

— historiquement, c'est à son sujet qu'ont été faites toutes les recherches qui ont abouti à la découverte du déficit enzymatique. Leur point de départ a été la découverte que les anémies provoquées par la Primaquine (antipaludéen de synthèse) ne se produisaient aux Etats-Unis que chez les sujets de race noire [37 - 262]. Pour rechercher la raison de cette susceptibilité raciale, il était nécessaire de faire des études sur un grand nombre de sujets et donc de faire appel à des volontaires. L'expérimentation n'était pas possible avec la Primaquine, qui est souvent mal tolérée du point de vue digestif et dont les complications hémolytiques peuvent être graves ; aussi est-ce un autre antipaludéen de synthèse, la Primaquine très bien tolérée par le tube digestif, que les Unités Médicales de Recherche contre le paludisme, de l'Université de Chicago et de l'Armée Américaine décidèrent d'expérimenter sur des volontaires du pénitencier de Stateville [8 - 9 - 64]. Ce médicament fut administré à la dose de 30 mg par jour pendant 14 jours (dose double

de la dose prophylactique habituelle): sur 810 volontaires (700 Blancs et 110 Noirs), on ne releva aucune hémolyse chez les Blancs, il y en eut 22 cas chez les Noirs [58]. On retrouvait nettement la prédisposition raciale qui était à l'origine de ces recherches.

Ayant ainsi sélectionné des sujets que nous désignerons sous le terme de « sensibles » [131], BEUTLER et ses collaborateurs [20] étudièrent leur sang pendant et en dehors des crises hémolytiques pour élucider le mécanisme de cette sensibilité et découvrir des caractères spéciaux permettant de la diagnostiquer.

ETUDE DE L'HEMOLYSE

Description de l'hémolyse

Elle survient après une période de latence de deux à trois jours.

Dans les formes mineures (17 sur les 22 cas rapportés), elle ne se traduit que par une hémoglobinurie modérée durant un à trois jours.

Dans les autres formes, il existe des signes bénins d'anémie hémolytique [73]. L'hémolyse est progressive, il n'y a jamais de formes graves avec hémoglobinurie massive et choc comme on a pu en décrire après prise de Pamaquine (qui réalise un tableau pouvant prêter à confusion avec celui de la fièvre bilieuse hémoglobinoïdique ou de l'accès pernicieux paludéen). L'hémolyse cesse entre le septième et le neuvième jour, après destruction de la moitié des globules rouges (chiffre qui ressort du dosage de l'hémoglobine ou des études avec des hématies marquées au Cr⁵¹) [73]. Elle s'arrête d'autant plus tôt qu'elle a commencé plus précocement. Le laboratoire ne montre que les signes habituels d'une anémie hémolytique; il n'y a aucun trouble immunologique [21]. La récupération se fait spontanément sans que des transfusions soient nécessaires et l'hémogramme redevient normal entre le vingtième et le trentième jour. Ensuite survient ce que DERN [73] appelle « une phase d'équilibre » ou « de tolérance spontanée », le sujet peut reprendre impunément de la Primaquine; cette phase se termine vers le soixantième jour. Passé ce délai, le sujet redevient sensible.

D'après DERN, les phénomènes seraient identiques en cas d'administration prolongée de Primaquine, aux mêmes doses journalières. Des études plus précises de KELLERMEYER [143], en 1961, ont montré que l'hémolyse est, en fait, dans ces cas un phénomène continu mais qui reste infraclinique, la moelle arrivant à compenser exactement les pertes, ce qui fait croire à une tolérance spontanée. Contrairement à ce que pensait DERN, si au cours de la période

d'équilibre, on redonne une dose beaucoup plus forte de Primaquine (120 à 240 mg), on démasque cette hémolyse infraclinique qui se manifeste alors par une hémoglobinurie.

Effet de la dose de Primaquine

— Pour des doses inférieures à 30 mg ou données pendant moins de 14 jours, l'hémolyse survient toujours chez les sujets « sensibles », mais à un degré moindre; une dose unique suffit même à provoquer l'hémolyse. DERN a beaucoup insisté sur le fait que l'hémolyse est un phénomène du « tout ou rien »; en fait pour des doses thérapeutiques, il existe une certaine corrélation entre la dose et l'hémolyse. Chez un sujet donné, après la phase d'équilibre, une même dose redonnera le même effet et la période de latence sera la même que lors de la première administration, à l'inverse de ce qui se passe dans les processus allergiques.

— Pour des doses de 240 mg par jour qui dépassent de beaucoup la dose thérapeutique, des signes d'intoxication apparaissent chez tous les individus sans distinction: malaises, douleurs, sueurs, troubles gastro-intestinaux, cyanose (par méthémoglobinémie) mais rarement hémolyse [97]. Dans les cas où celle-ci survient, elle est progressive et s'aggrave tant qu'on administre le médicament, ce qui la différencie de l'hémolyse que nous venons de décrire.

Etudes cytologiques, chimiques et immunologiques [21-75]

BEUTLER ne trouva dans le sang des sujets « sensibles » aucune anomalie cytologique ou antigénique, aucune hémoglobinoïdose. Les épreuves de fragilité mécanique, osmotique ou chimique se révélèrent normales.

L'incubation des globules rouges avec de la Primaquine à dose de 100 mg par ml associée ou non avec de la Saponine ne modifia pas la résistance des hématies à l'hémolyse.

Etudes avec des hématies marquées

En 1953, DERN [73 - 75] en utilisant des hématies marquées au Cr^{51} démontra que l'anomalie intéressait le globule rouge lui-même et non le plasma. Dans un premier temps il démontra, avec des expériences d'auto-transfusion, que l'hématie sensible avait une durée de vie normale s'il n'y avait pas prise de drogue. Dans un deuxième temps, il injecta des hématies sensibles à un receveur non sensible prenant de la Primaquine. Elles furent lysées alors que les hématies non sensibles injectées à un receveur sensible prenant de la Primaquine ne l'étaient pas bien qu'il détruisait, à ce moment, ses propres hématies.

BEUTLER et DERN cherchèrent ensuite à expliquer pourquoi l'hémolyse s'arrêtait alors que le sujet continuait à prendre le médicament. Ils démontrèrent que le sujet n'avait pas acquis de nouveaux moyens de désintoxication : il suffisait de lui injecter des hématies sensibles marquées pour qu'il les détruise. BEUTLER en déduisit que les hématies survivantes possédaient des propriétés de résistance qui pouvaient être constitutionnelles ou acquises pendant la période d'hémolyse. Il démontra que les hématies résistantes étaient les plus jeunes et que les hématies détruites étaient les hématies âgées. En donnant une dose unique intra-veineuse de Fe^{59} , il marqua une population d'hématies, celle produite par la moelle pendant les 13 jours qui suivaient l'injection. Du 21^e au 25^e jour, il donna de la Primaquine, l'hémolyse se produisit ; l'hémoglobine baissa de 30 % mais les hématies marquées, âgées de 8 à 21 jours, ne furent pas touchées. Il redonna de la Primaquine du 76^e au 81^e jour après administration du Fe^{59} ; 66 % des hématies marquées, âgées de 63 à 76 jours furent lysées ; pourcentage inférieur à la réalité car une partie du Fe^{59} libérée est immédiatement réutilisée par la moelle [22].

Les hématies « sensibles » perdent donc en vieillissant certaines propriétés de résistance à l'hémolyse. On comprend que l'hémolyse soit un phénomène continu en cas d'administration prolongée de Primaquine : il n'y a pas une fraction des hématies qui est sensible et une qui est résistante, mais des cellules âgées qui succombent immédiatement et des cellules jeunes qui deviennent vulnérables lorsqu'elles vieillissent.

Il nous reste à étudier maintenant ce qui caractérise la cellule sensible.

CRITERES DE SENSIBILITE

Le test des corps de Heinz [23]

Ce fut le premier critère décrit, il fut mis au point par BEUTLER en 1955. Il l'imagina après avoir constaté que normalement, vers le 4^e jour après l'administration de Primaquine, de nombreuses hématies présentaient des corps de Heinz qui signent la souffrance cellulaire. Ce sont ces hématies qui seront hémolysées. Ce phénomène, noté en 1928 par PALMA dans un cas d'anémie provoquée par la Pamaquine, était retombé dans l'oubli. Les corps de Heinz, décrits par RIESS en 1882 et étudiés par HEINZ en 1890, sont des corpuscules intraglobulaires visibles en contraste de phase après coloration au cristal violet. Ces granulations peuvent avoir jusqu'à 2 μ de diamètre et peuvent être confondues, suivant les modes de coloration, avec des granulations basophiles ou des granulations de réticulocytes. Des corps de Heinz ont été retrouvés dans de nom-

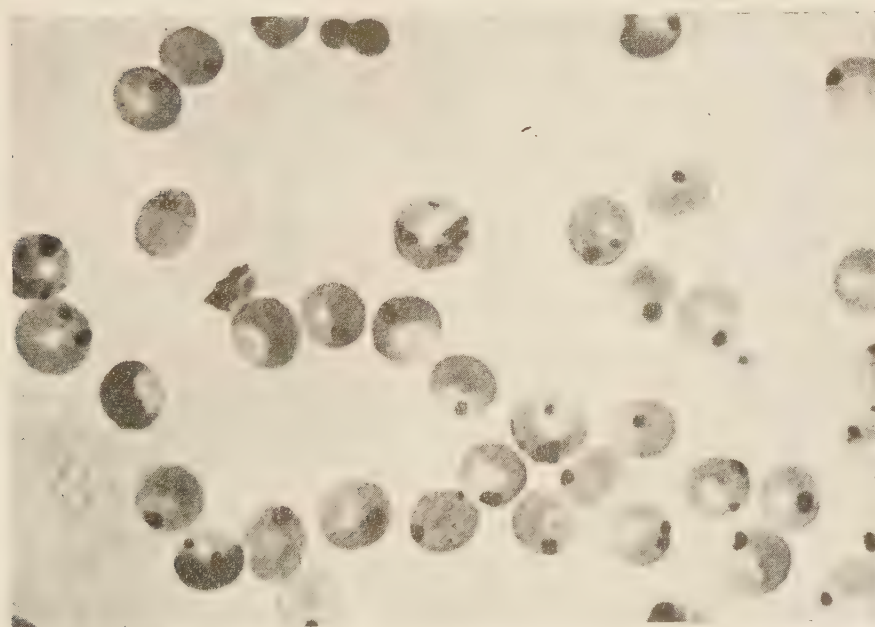
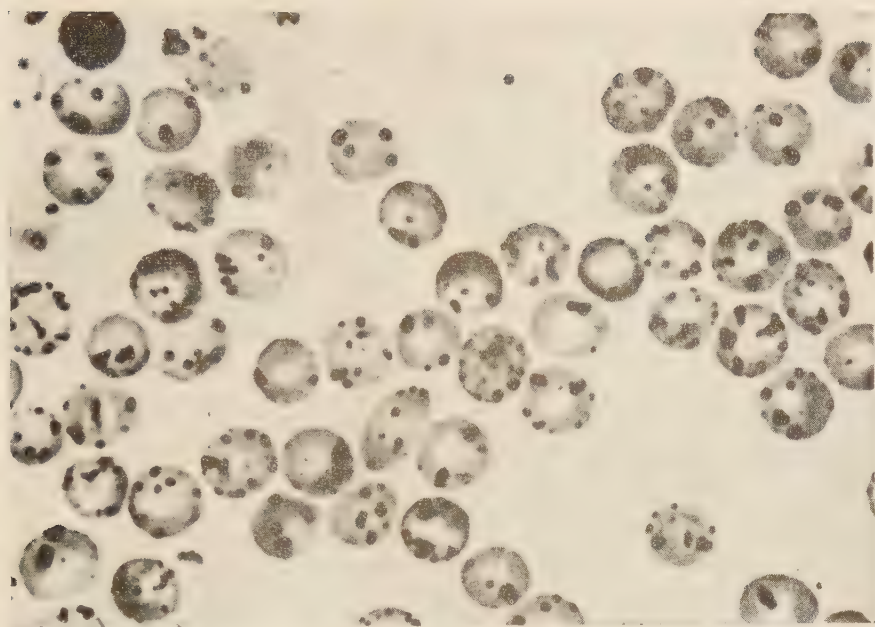


FIG. 1.

Test des corps de Heinz (d'après BEUTLER E.) [20]

Coloration au cristal violet et examen au microscope à contraste de phase.
— en haut, hématies « sensibles » contenant de nombreux corps de Heinz, éparés dans la cellule.

— en bas, hématies normales, n'en contenant que quelques-uns, en position marginale.

breux cas d'anémies hémolytiques toxiques [94 - 259], dans les hémoglobinoses et chez les sujets splénectomisés ou ayant une agénésie de la rate [91 - 276]. HARLEY et MAUER ont pu, en 1960, démontrer qu'ils étaient constitués par de l'hémoglobine dénaturée et que la méthémoglobine était une étape dans leur formation. Ils ont pu réaliser, à partir d'hémoglobine extraite de globules rouges normaux et incubée avec de l'A.P.H. (acétyl-phényl-hydrazine), des corpuscules ayant les mêmes caractères histochimiques que les corps de Heinz [125 - 126 - 127].

BEUTLER imagina de mettre à incuber pendant 4 heures du sang total avec de l'A.P.H. en l'oxygénant régulièrement et de faire ensuite un étalement. Chez les sujets sensibles à la Primaquine, en dehors d'une crise hémolytique, plus de 40 % des hématies contiennent, dans ces conditions, au moins 5 corps de Heinz alors que chez les sujets normaux on en retrouve dans moins de 30 %. En cas de résultat compris entre 30 et 40 %, la sensibilité à la Primaquine est probable mais ne peut être affirmée. Les corps de Heinz sont souvent représentés par une grosse granulation marginale dans les hématies normales alors qu'ils sont disséminés dans toute l'hématie « sensible ». Malheureusement, les résultats varient beaucoup avec les conditions d'expérience (oxygénation, hématokrite). BEUTLER a trouvé chez un même sujet lors de 9 prélèvements faits dans une période de 19 jours des taux variant de 42 à 91 % (donc toujours supérieurs aux 40 % minimum). Dans d'autres cas, il a eu des résultats faussement positifs comme il a pu le vérifier plus tard en utilisant d'autres tests de sensibilité.

Ce test n'est pas spécifique ; il est notamment très positif dans les thalassémies majeures [138].

L'A.P.H. peut être remplacé dans ce test par les autres médicaments que nous étudierons ou par des substances réductrices.

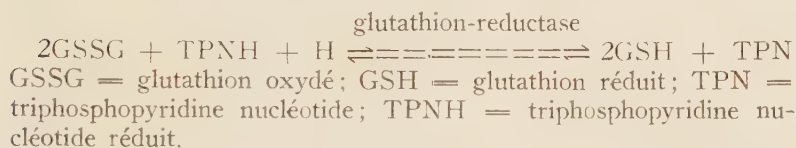
Le taux de glutathion réduit

BEUTLER découvrit également que les sujets « sensibles » avaient un taux de GSH anormalement bas en période d'hémolyse et même à l'état normal [24]. Chez l'adulte normal, le taux est, d'après BEUTLER, de $74 \text{ mg} \pm 10 \text{ mg}$ par 100 ml d'hématies, alors que chez le sujet « sensible » il est de $45,6 \pm 4$. Pendant l'hémolyse, le GSH diminue les premiers jours. Du 5^e au 9^e jour, alors que l'hémolyse est au maximum, le GSH remonte progressivement à son taux initial [96 - 97]. On pense que cette remontée est due à la réticulocytose, mais il n'y a pas de parallélisme strict entre les deux phénomènes (il faut faire intervenir en plus le rajeunissement relatif de la population sanguine). Ces résultats sont valables statistiquement mais non individuellement : d'une part certains sujets « sensibles » ont un GSH subnormal et d'autre part le GSH est

abaissé dans les affections comme la maladie d'Addison, le diabète, les atteintes hépatiques [30 - 206 - 209].

L'abaissement du GSH n'est donc pas pathognomonique de la sensibilité aux médicaments, mais sa découverte permit d'élaborer une pathogénie pour expliquer cette sensibilité. Avant de l'exposer, il nous faut faire un *rappel du métabolisme du glutathion* [135].

Le glutathion est un tripeptide formé d'acide glutamique, de cystéine et de glycocolle. Dans le sang il n'existe que dans l'hématie où il se trouve sous deux formes: réduite ou thiol (GSH), et oxydée ou disulfure (GSSG). L'hématie ne semble pouvoir en faire la synthèse qu'à partir des acides aminés (expérience de SZEINBERG d'incorporation de la glycine marquée) [265]. L'équilibre entre les deux formes de glutathion est régi par une réaction réversible:



Le taux de GSSG n'est pas augmenté in vivo durant l'hémolyse, alors que le GSH s'effondre; FLANAGAN en déduit que le GSH est décomposé en amino-acides et dipeptides [97]. BEUTLER estime qu'il est possible que le GSH se transforme en GSSG mais ce dernier serait détruit au fur et à mesure de sa formation, son taux cellulaire étant une constante biologique. Il semble, en fait, que la destruction soit plus complète: la méthode habituelle du dosage du GSH [122] ne dosant en fait que les radicaux SH qui sont représentés dans le sang pour 95 % par le GSH, on ne devrait pas trouver un abaissement de ce taux, lors de l'hémolyse si ces groupements SH survivaient sous forme de cystéine.

Le rôle exact du GSH a fait l'objet de nombreuses hypothèses. Le couple $\text{GSH} \rightleftharpoons \text{GSSG}$ joue certainement un rôle important comme transporteur d'hydrogène et l'on attachait autrefois beaucoup d'importance au rapport GSSG/GSH dans de nombreuses affections, notamment la tuberculose [209]. Mais le rôle essentiel semble être celui du GSH qui est un réservoir de groupements SH pour les enzymes cellulaires [92]. Si on fait agir des inhibiteurs des groupements sulfhydryles sur des hématies non sensibles, celles-ci donnent un test de corps de Heinz identique à celui des hématies sensibles et leur fragilité osmotique augmente [24]. Les groupements SH ont un rôle important dans les processus de neutralisation des toxiques dits « thioliprives »; le B.A.L. par exemple neutralise les métaux lourds par ses radicaux SH. Le GSH constitue avec la cystéine la seule source de radicaux SH du sang, mais celle-ci est à un taux bien plus faible, est moins soluble et ses radicaux

SH sont bien moins mobiles. BEUTLER en conclut donc que le GSH assure le maintien de l'intégrité cellulaire et que c'est du fait de sa diminution que l'hématie « sensible » résiste mal à l'hémolyse. Nous verrons plus loin que cette hypothèse paraît discutable d'après les travaux récents. Ce n'est d'ailleurs qu'en 1960 que l'on a pu démontrer pour la première fois une action directe du GSH : il est indispensable pour sauvegarder la stabilité d'une enzyme : la pyrophosphatase qui contient un groupement SH fonctionnel, mais il s'agit là d'un rôle bien modeste [216].

Le test de stabilité du GSH [26]

Ce troisième critère a été décrit par BEUTLER en 1957. Nous l'étudierons plus en détail dans la deuxième partie de ce travail et n'en exposerons ici que le principe : l'incubation du sang pendant deux heures avec de l'A.P.H. fait diminuer le chiffre du GSH de façon notable chez le sujet « sensible ». Chez le sujet normal, l'incubation avec l'A.P.H. peut faire aussi baisser le GSH mais seulement de quelques mg et son taux reste toujours supérieur à 35 mg %. Il est convenu d'appeler un sujet « intermédiaire » lorsque son taux de GSH tombe entre 22 et 35 mg et « hypersensible » quand ce taux devient inférieur à 22 mg %. Ce test est le premier à être absolument spécifique ; il n'a été retrouvé positif dans aucune autre maladie : leucémie aiguë, leucémie myéloïde, lymphosarcomatose, maladie de Waldenström, maladie de Vaquez, hémoglobinose, lupus érythémateux diffus, saturnisme, etc... [20]. Les sujets que BEUTLER avait trouvés faussement positifs par le test des corps de Heinz se sont révélés avec le test de stabilité du GSH franchement normaux. On avait cru avoir découvert avec ce test non seulement un moyen de diagnostic, mais aussi l'explication physiopathologique de la sensibilité aux médicaments [25]. Dans la réalisation du test, l'A.P.H. peut le plus souvent être remplacé par le médicament incriminé [145 - 270 - 306]. Ce dernier agirait, *in vivo*, en détruisant le GSH du globule rouge ; l'hématie marquerait sa souffrance en produisant des corps de Heinz, puis succomberait. Cette pathogénie, bien que trop simpliste constitua une fructueuse hypothèse de travail.

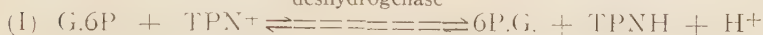
Le déficit en glucose 6 phosphate déshydrogénase

MISE EN ÉVIDENCE

La sensibilité à la Primaquine témoigne d'une fragilité globulaire. Comme le maintien de l'intégrité cellulaire est sous la dépendance de la glycolyse qui libère de l'énergie et permet l'anabolisme,

il était logique de rechercher si cette fragilité n'était pas la conséquence d'un trouble enzymatique de la glycolyse. Pour comprendre ces recherches, il est nécessaire de rappeler quelques notions relatives au métabolisme glucidique de l'hématie [78] : l'hématie transforme le glucose circulant en glucose 6 phosphate et l'utilise de deux manières et dans deux buts différents : en anaérobiose par la voie d'Embden Meyerhof qui lui procure les 9/10 de l'énergie dont elle a besoin ; en aérobose par la voie des pentoses de Horecker qui lui fournit le reste de l'énergie et qui surtout lui procure du triphosphopyridine-nucléotide réduit (TPNH) dont nous verrons plus loin l'importance. La seule source de TPNH dans l'hématie réside dans les deux premières réactions de la voie des pentoses.

glucose 6 phosphate
déshydrogénase



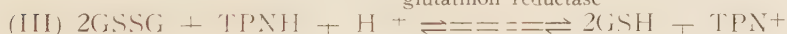
6 phosphogluconate
déshydrogénase



G.6P = glucose 6 phosphate ; TPN = triphosphopyridine nucléotide ; TPNH = triphosphopyridine nucléotide réduit ; 6P.G. = 6 phosphogluconate ; R.5P = ribulose 5 phosphate.

Le TPNH intervient notamment dans le métabolisme du glutathion

glutathion reductase



Le métabolisme du glutathion étant anormal dans l'hématie « sensible », CARSON [49] rechercha si ce n'était pas la conséquence d'un déficit en TPNH et donc en enzyme de la voie des pentoses. Il imagina de doser le GSH produit par la réduction d'une quantité donnée de GSSG, cette réduction étant faite avec le TPNH produit soit par la réaction I soit par la réaction II. Les constituants de ces réactions étaient en quantité connue sauf les enzymes qui étaient apportées par des hémolysats de sujets sensibles à la Primaquine. Le taux de GSH produit en utilisant comme source de TPNH la réaction I est très inférieur à celui obtenu avec la réaction II, ce qui permet de conclure à un déficit en glucose 6 phosphate déshydrogénase dans les hémolysats des sujets sensibles à la Primaquine.

Le déficit enzymatique est plus ou moins important ; il est possible, comme avec le test de stabilité du GSH, de classer les sujets en hypersensibles (avec déficit pouvant être absolu), intermédiaires et normaux. Il n'y a pas toujours une correspondance parfaite entre les résultats du test de stabilité du GSH, le taux de l'enzyme

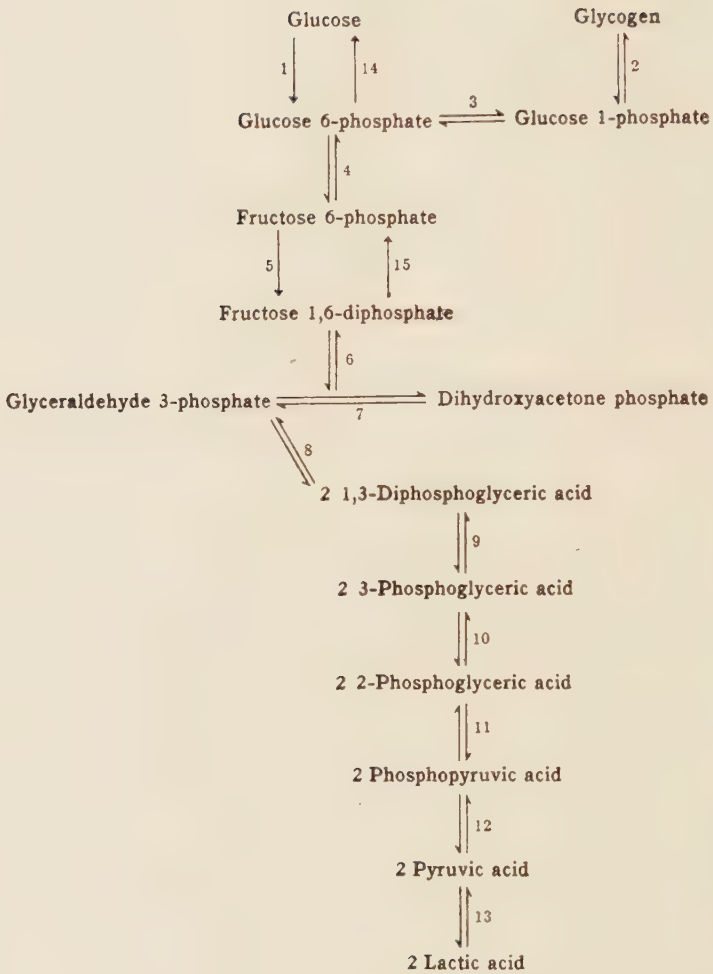


FIG. 2.

La glycolyse anaérobie (voie d'Embden Meyerhof).

1 = Hexokinase; 2 = Phosphorylase; 3 = Phosphoglucomutase; 4 = phosphohexose isomerase; 5 = Phosphofructokinase; 6 = Aldolase; 7 = Phosphotriose isomerase; 8 = Phosphoglyceraldehyde dehydrogenase; 9 = Phosphoglyceric kinase; 10 = Phosphoglyceromutase; 11 = Enolase; 12 = Pyruvic kinase; 13 = Lactic dehydrogenase; 14 = glucose 6-phosphatase; 15 = diphosphofructose phosphatase.

(D'après WHITE A. Principles of Biochemistry.)

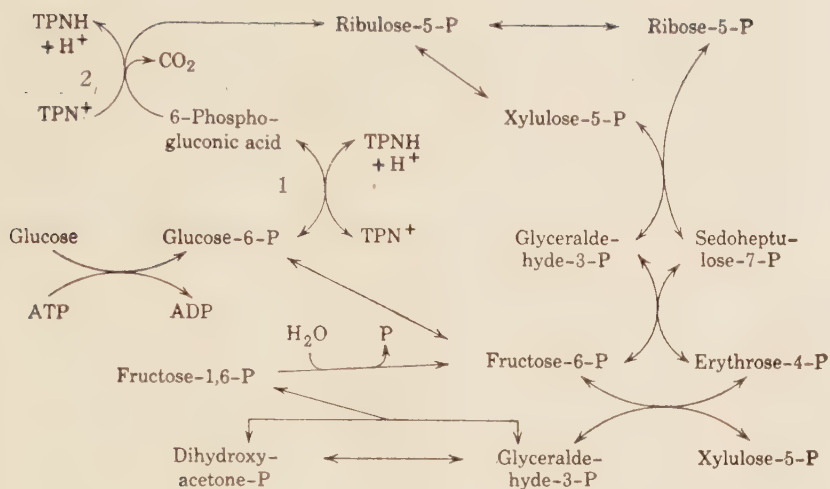


FIG. 3.

La glycolyse aérobie (voie des pentoses de Horecker)

1 — Glucose 6 phosphate deshydrogenase.

2 — 6 phosphogluconate deshydrogenase.

(D'après FRUTON J.S. General Biochemistry.)

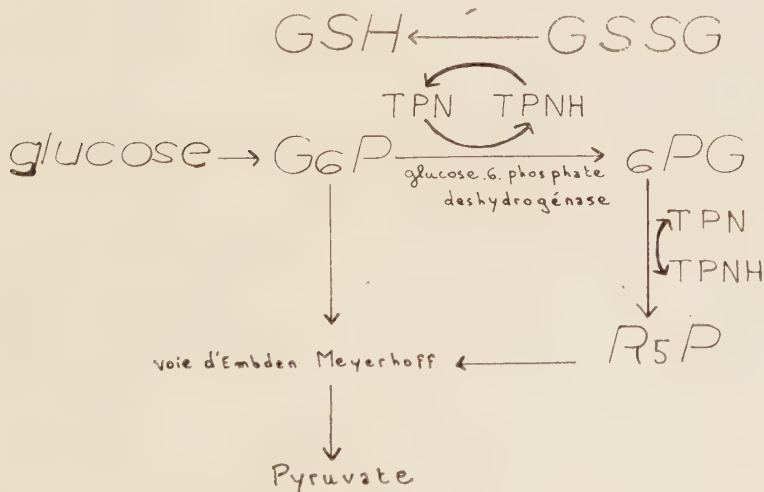


FIG. 4.

Les deux modes de glycolyse de l'hématie. Les rapports entre la glucose 6 phosphate deshydrogénase et le métabolisme du glutathion par l'intermédiaire du triphosphopyridine nucléotide.

G6P = glucose 6 phosphate; 6GP = phosphogluconate; R 5P = ribulose 5 phosphate; TPNH = triphosphopyridine nucléotide réduit; GSH = glutathion réduit; GSSG = glutathion oxydé.

et la sensibilité à la Primaquine. Ceci est surtout vrai dans le sexe féminin : DAWSON [69] rapporte le cas d'une femme ayant un test de stabilité la classant comme « intermédiaire » alors qu'elle a un déficit enzymatique complet. Cela ne diminue en rien la valeur du test de stabilité du GSH, les erreurs sont toujours par défaut et toute instabilité du GSH correspond à un déficit enzymatique. Les discordances sont cependant rares et GROSS et MARKS en 1959 ont trouvé un parallélisme complet des résultats chez 123 sujets [117].

LA GLYCOLYSE CHEZ LES SUJETS « SENSIBLES ».

Il existe un rapport entre le taux d'incorporation du P³² dans l'hématie et la glycolyse. Son taux d'incorporation est normal chez le sujet « sensible », ce qui prouve une glycolyse normale, tant qu'il n'y a pas d'agression médicamenteuse [24]. Il faut donc qu'il y ait des processus de compensation pour l'hématie « sensible » qui est privée en grande partie de l'utilisation du shunt de Horecker.

SCHRIER a démontré que cette hématie possède 30 % de plus d'aldolase que l'hématie normale [237 - 240], ce qui lui permet d'utiliser, avec un rendement supérieur, la voie d'Embden-Meyerhof ; l'aldolase contrôle une réaction de cette voie, la transformation du fructose 1.6 diphosphate en 3 phosphoglyceraldéhyde. Elle possède également un taux élevé de GSSG-réductase [238 - 239] permettant de libérer plus rapidement le TPN nécessaire à la déshydrogénation du G6P, et aussi une quantité accrue de DPNH qui peut, dans certaines circonstances critiques, remplacer le TPNH. Toutes les autres enzymes de la glycolyse ont été étudiées et se sont révélées normales [130]. Tout ceci permet à l'hématie « sensible » d'avoir une glycolyse satisfaisante, et donc une durée de vie subnormale.

VARIATION DU DÉFICIT AVEC LA RACE DU SUJET.

Chez les sujets normaux, le taux d'enzyme ne varie pas avec le sexe ou la race des sujets : 16,1 unités, mais chez les sujets « sensibles » il n'en est pas de même [178 - 175] :

2,7 unités chez les Noirs du sexe masculin
0,4 unité chez les Blancs du sexe masculin
6,9 unités chez les Noirs du sexe féminin
6,8 unités chez les Blancs du sexe féminin

Les hommes « sensibles » ont un déficit plus important que les femmes ; ceci avait déjà été noté avec le test de stabilité du GSH : les hommes sont le plus souvent « hypersensibles » alors que les femmes sont « intermédiaires ». Le taux enzymatique ne varie pas

avec la race dans le cas des sujets « intermédiaires » : les femmes Noires ont le même taux que les femmes Blanches ; il est par contre très influencé par la race dans le cas des sujets « hypersensibles » : le déficit est presque total chez les hommes Blancs qui ont un taux sept fois inférieur à celui des hommes Noirs.

VARIATIONS DU DÉFICIT ENZYMATIQUE AVEC L'ÂGE DES HÉMATIES.

Les études faites avec des hématies marquées au Fe^{59} ont montré que la Primaquine détruisait les hématies les plus âgées [22]. MARKS et GROSS [177 - 181] ont démontré que cette susceptibilité à l'hémolyse correspondait à un déficit enzymatique plus important de la cellule âgée. Ils ont séparé dans un échantillon de sang les hématies suivant leur âge, en utilisant les propriétés des cellules jeunes : elles résistent mieux à l'hémolyse par des solutions hypotoniques et sont moins denses, ce qui permet de les séparer par centrifugation. Ils ont trouvé une diminution de l'activité enzymatique avec le vieillissement cellulaire, aussi bien dans les hématies de sujets normaux que dans celles de sujets « sensibles » à la Primaquine » [173]. Chez les sujets normaux, les hématies jeunes ont 7,7 fois plus d'activité que les cellules âgées, soit 34,7 unités. Chez les sujets « intermédiaires », on trouve 4 fois plus d'activité dans les hématies jeunes, soit 22,6 unités. Chez les sujets « hypersensibles » on retrouve en plus la différence entre Noirs et Blancs : dans les hématies jeunes des Noirs 8,1 unités contre 1,1 dans les âgées ; dans les hématies jeunes de Blancs 1,1 unité contre 0 dans les âgées. Chez le sujet « hypersensible » Noir, le taux est relativement important dans l'hématie jeune, mais il n'atteint cependant jamais le taux normal.

La G.6P.D. a donc une propriété qui disparaît du fait du vieillissement. Les recherches ci-dessus montrent que le vieillissement n'accélère pas plus rapidement la chute du taux de l'enzyme dans l'hématie « sensible » que dans l'hématie normale. On peut donc avancer qu'il doit exister un taux critique d'enzyme au delà duquel l'hématie devient très vulnérable ; partant d'un taux initial bien plus bas, l'hématie « sensible » l'atteint beaucoup plus jeune que l'hématie normale.

Le déficit en catalase

TARLOV [279 - 280] a découvert en 1960 que les hématies des sujets « hypersensibles » ont un taux de catalase diminué de 40 % par rapport aux sujets normaux. BEUTLER et SZEINBERG avaient déjà pratiqué ces dosages, mais n'avaient pas trouvé de différence

entre sujets « hypersensibles » et normaux car leurs méthodes de dosage étaient moins précises que celles de TARLOV [20].

La catalase est une enzyme qui n'intervient pas dans la glycolyse mais qui sert à protéger l'hémoglobine contre son oxydation. Son rôle semble important car pendant l'hémolyse provoquée par la Primaquine, le taux de catalase s'effondre brutalement et le retour à son taux initial demande très longtemps. C'est la seule activité enzymatique qui décroît au moment de l'hémolyse et cette atteinte précède même la chute du GSH.

CHAPITRE II

Anémies hémolytiques provoquées par d'autres médicaments chez les sujets enzymopéniques

Comme nous venons de le voir, deux médicaments ont surtout été étudiés : la Pamaquine qui a été à l'origine du plus grand nombre de cas publiés et qui a été le point de départ des recherches sur la susceptibilité particulière des Noirs Américains ; la Primaquine qui a pu être donnée à des volontaires en raison du peu de danger qu'entraînait son emploi.

Mais beaucoup d'autres médicaments agissent de la même façon : ceci ressort de l'observation clinique et surtout de l'expérimentation sur des volontaires « sensibles à la Primaquine ». En clinique, l'étiologie médicamenteuse ne peut être retenue chez un sujet porteur du déficit en G.6P.D. que si sont réunis les critères suivants : anémie hémolytique isolée, sans leucopénie, sans thrombopénie ; anémie déterminée par des doses non hémolytiques chez les sujets normaux ; réalisation du test de stabilité du GSH avec le médicament (mais ceci n'est pas toujours possible, le médicament n'agissant que par l'intermédiaire d'un de ses produits de dégradation).

On a publié des observations d'hémolyse enzymopénique due à des médicaments qui avaient été bien supportés par des volontaires « sensibles ». Plusieurs explications sont possibles :

Il peut s'agir d'une coïncidence ; il ne faut pas oublier que le déficit enzymatique est très répandu dans certaines races et qu'un sujet « sensible » peut faire une hémolyse d'une autre origine.

Des facteurs individuels interviennent : des hématies marquées au Cr⁵¹ d'un sujet « sensible » injectées à différents receveurs normaux, absorbant une dose identique de thiazosulfone sont hémoly-

lysées de façon très variable suivant les receveurs [74]. Le pourcentage d'hémolyse varie de 0 à 76 %. L'absorption intestinale du produit n'est pas la même chez tous, mais il se peut que d'autres facteurs interviennent. La rate ne semble en tous cas jouer aucun rôle; les sujets splénectomisés ont dans leur sang circulant des hématies à corps de Heinz [91 - 276], mais l'hémolyse se fait de la même façon chez eux que chez les sujets ayant conservé leur rate: DERN [75] a trouvé une survie identique d'hématies « sensibles » marquées chez deux receveurs normaux dont l'un était splénectomisé. Il se peut que la dégradation des médicaments se fasse d'une façon anormale chez certains sujets libérant des métabolites pathologiques doués de pouvoir hémolytique chez les sujets « sensibles ».

Des facteurs immunologiques peuvent se surajouter: cela a été démontré dans le favisme [139].

Le rôle des infections n'est pas à négliger: si elles sont l'occasion de la prescription de ces drogues hémolysantes, en particulier de la phénacétine qui entre dans de nombreux produits antithermiques, elles peuvent avoir aussi un pouvoir hémolytique minime qui est potentialisé par l'enzymopénie [20 - 272].

LES ANTIPALUDÉENS

Les antipaludéens de synthèse

Le pouvoir hémolytique n'existe que chez ceux qui ont un radical 8-aminoquinoléine. Si on dépasse les doses thérapeutiques, l'hémolyse se produit chez tous les sujets et elle s'accompagne de méthémoglobinémie et de neutropénie. Aux doses thérapeutiques, le pouvoir hémolytique reste latent sauf chez les sujets « sensibles » où l'enzymopénie le potentialise.

La Pamaquine (spécialisée sous le nom de Praequine, Plasmoquine) est utilisée en France associée à une autre 8-aminoquinoléine: la Rhodoquine. Cette association, la Rhodoprequine, contient 5 mg de Pamaquine par comprimé et est prescrite à la dose de 3 comprimés par jour pendant 3 jours. Découverte en 1926, la Pamaquine a été utilisée dans le monde entier en raison de ses propriétés gaméticides. Elle était prescrite sous la forme pure à raison de 30 mg par jour; dès le début de son utilisation, des cas d'hémolyse avec hémoglobinurie furent rapportés chez les Noirs Américains [262], alors que les Blancs étaient très rarement atteints. Ce n'est qu'en 1948 que ce caractère racial fut reconnu et BEUTLER [20] s'est étonné à juste titre, de ce retard. L'explication en est peut-être que la constatation dans d'autres parties du monde d'hémolyse chez

des Blancs (Sardes, Juifs orientaux) ou chez des Chinois égara les chercheurs. Ce problème fut pourtant bien étudié; BEUTLER signale que 4 ans après la découverte de la Pamaquine, 415 publications avaient déjà été faites à son sujet. On s'est en effet beaucoup intéressé à l'hémoglobinurie qu'elle provoque; cet incident est un symptôme d'alarme dans les pays d'endémie palustre, il fait craindre une fièvre bilieuse hémoglobinurique ou un paludisme malin; le diagnostic différentiel est fait rapidement car l'hémoglobinurie due à la Pamaquine n'est pas aussi dramatique et cesse rapidement.

De nombreuses 8-aminoquinoléines ont été étudiées au cours de la deuxième guerre mondiale, car les puissances alliées étant coupées des pays producteurs de quinine, devaient utiliser des antipaludéens de synthèse. Parmi ceux-ci furent utilisées: la *Primaquine* [102 - 103] et la *Pentaquine* [8] qui provoquent elles aussi des hémolyses chez des sujets « sensibles ».

On a recherché sans succès quel était le radical responsable de l'hémolyse; les 4 aminoquinoléines, par exemple la Chloroquine (nivaquine), ne sont pas hémolytiques, mais presque toutes les 8-aminoquinoléines le sont.

La quinine

On retrouve dans sa formule le noyau quinoléine. Elle n'a pas provoqué d'hémolyse chez des volontaires « sensibles » de BEUTLER [20], mais de nombreux cas d'hémolyse ont été publiés en Sardaigne dans les familles de faviques [158]. La quinine a un pouvoir hémolytique modéré. Le terrain déficient et un hématozoaire particulièrement virulent peuvent le potentialiser, réalisant une fièvre bilieuse hémoglobinurique; si l'hématozoaire est moins virulent et le sujet en bon état général mais porteur du déficit enzymatique, l'hémolyse est modérée du type « sensibilité à la Primaquine ».

LES SULFAMIDES

Si l'on considère l'usage énorme que l'on fait des sulfamides, le pourcentage d'accidents sanguins est minime. L'atteinte hématologique se traduit surtout par une méthémoglobinémie ou par une leucopénie pouvant aller jusqu'à l'agranulocytose. Les cas d'hémolyse, rares, ont été signalés surtout chez l'enfant, déterminant le syndrome de Lederer-Brill [298 - 260 - 151 - 129 - 109 - 108 - 107 - 63 - 13]. Certains de ces cas s'expliquent par le mécanisme enzymopénique.

BEUTLER a réalisé une hémolyse chez ses volontaires « sensibles » avec notamment la paraaminophénylsulfamide (Septoplax) à la dose

de 3 g 60 par jour et la sulfacétamide à la dose de 5 g par jour; il a échoué avec la sulfadiazine, sulfamérazine, sulfathiazol... [20].

En clinique, plusieurs cas provoqués par le sulfafurazol (*Gantrisine*) ont été publiés; on en connaît deux observations d'enfants porteurs d'anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire enzymopénique (une de ZINKHAM et une de NEWTON). ZINKHAM [308] réussit à remplacer l'A.P.H. par de la Gantrisine dans le test des corps de Heinz, mais échoua, de même que ZUELZER, pour le test de stabilité, même en utilisant du sérum de sujet ayant absorbé auparavant de la Gantrisine et contenant donc ses métabolites. NEWTON [194] a, lui, obtenu un résultat positif. En Sardaigne, LARIZZA et GRIGNANI [158 - 227] signalent de nombreux cas d'hémolyse par les sulfamides; il en est de même aux U.S.A. parmi les Noirs ou en Israël; mais une étude enzymatique n'a pas toujours été faite [275].

En France, J. BERNARD a pu mettre en évidence, en 1961, le déficit en G.6P.D. chez un israélite de rite sephardi qui a présenté, à deux reprises, une anémie hémolytique aiguë après administration de sulfanilamide (la première fois en comprimés, la deuxième fois par saupoudrage d'une plaie) [18 bis]. Ce sujet fait partie d'une des trois familles qui avaient été étudiées par J. BERNARD vingt ans plus tôt et chez qui il avait pressenti une anomalie globale prédisposant à l'hémolyse, qu'il avait dénommée « hémolyse aiguë familiale » [18].

L'enzymopénie potentialise le pouvoir hémolytique minime de certains sulfamides, mais ne suffit pas toujours: le sujet enzymopénique, décrit par KIMBO, fit une hémolyse avec de la nitrofurantoïne mais supporta la Gantrisine [145].

LES SULFONES

La sulfoxone (300 mg par jour) [77], la thiazosulfone (6 g par jour) sont hémolytiques chez les volontaires « sensibles » [20]. En clinique, l'emploi de la dapsone dans les léproseries du Nigéria se complique d'hémolyse dans 10 % des cas (pourcentage qui est celui du déficit enzymatique dans ce pays) (DAVEY-GILLES [105 - 254].

ACETANILIDE ET PHENACETINE

Ces corps, dérivés de l'aniline, sont méthémoglobinisants. La phénacétine, dérivé de l'acétanilide, est seule employée en thérapeutique. L'intoxication chronique est fréquente et se traduit par une cyanose et une anémie à corps de Heinz [241].

Les cas d'hémolyse aiguë survenant lors de la première absorption sont rares [133] et concernent des sujets « sensibles » : un cas de ZINKHAM [308] d'anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire, deux cas de KIMBRO [145)], un cas de LARIZZA [158 - 159], deux cas de GILLES [104].

Les volontaires « sensibles » n'ont fait une hémolyse que pour des doses supérieures aux doses thérapeutiques : 3 g 60 de phénacétine (dose maxima journalière du Codex : 3 g), 3 g 60 d'acétanilide (dose maxima : 1 g).

PHENYLHYDRAZINE ET CRYOGENINE

La phénylhydrazine

On utilise ses propriétés hémolytiques à la dose de 100 mg par jour dans la maladie de Vaquez ; on constate alors sur les lames de sang des hématies à corps de Heinz. A dose plus faible, 30 mg par jour, elle ne provoque une hémolyse que chez les sujets « sensibles ». Cette hémolyse est d'intensité variable, car l'absorption digestive de la drogue est variable [20].

La cryogénine (phénylsemicarbazide)

En 1950, DEBRE et ses collaborateurs [71] ont démontré que la cryogénine était à l'origine d'anémies hémolytiques aiguë infantiles se traduisant par un syndrome de Lederer-Brill sans hémoglobinurie. L'hémolyse a un début brutal en coup d'archet, la déglobulisation est intense, accompagnée de fièvre, les urines sont colorées en jaune vif tachant le linge, les hématies contiennent des corps de Heinz. La guérison se fait rapidement sans séquelles, après transfusions [109 - 134 - 172 - 182 - 208].

La cryogénine, qui entrerait dans la composition de comprimés et surtout de suppositoires antithermiques, très utilisés en pathologie infantile, avait été donnée à des doses variant entre 3 et 10 cg par kg de poids. Le produit s'éliminant lentement, les doses se surajoutent : la dose de 10 cg par kg de poids est certainement toxique (le Codex donne comme dose maxima par jour 0 g 10 chez l'enfant), elle est toujours hémolytique pour le chien (YIOTO). En clinique, on a été frappé du petit nombre de cas d'accidents par rapport à la diffusion de l'emploi de la cryogénine. Il existe un net facteur individuel et il est vraisemblable que, dans certains cas, l'enzymopénie est intervenue, mais cela n'a jamais été recherché. La phénylhydrazine ($\text{NH}_2\text{—NH—C}_6\text{H}_5$) est un des produits de dégradation de la cryo-

génine ($\text{NH}_2\text{—CO—NH—NH—C}_6\text{H}_5$) et on connaît son action chez les sujets « sensibles ». Quelle que soit la pathogénie de ces accidents, l'emploi de la cryogénine est absolument contre-indiqué chez le nourrisson.

P.A.S.

Le P.A.S. en solution (ampoules buvables, ou flacons de perfusion) a provoqué, durant les premières années de son utilisation, des anémies hémolytiques aiguës avec hémoglobinurie et choc, souvent mortelles [15 - 52 - 56 - 57 - 98 - 137 - 169 - 232 - 250]. Ces accidents sont nettement du type toxique [186] et sont dûs au fait que les solutions de P.A.S. sont instables, lorsqu'elles sont gardées trop longtemps. Elles donnent naissance à du meta aminophénol qui les colore en marron foncé et à des corps phénoliques goudronnés très toxiques qui sont retrouvés dans les urines des malades. Ces accidents ne sont plus à craindre actuellement car les solutions actuelles de B.P.A.S. ascorbiques sont stables.

On peut encore observer des anémies hémolytiques aiguës beaucoup moins graves provoquées par le P.A.S. sous toutes ses formes (solutions, comprimés, granulés) et dans la pathogénie desquelles l'instabilité n'intervient pas. Un mécanisme enzymopénique est vraisemblable dans certaines observations où une hémolyse modérée est survenue lors de la première prise du médicament chez des Sardes (GUEZ [123]), STAFFA, DEPERRU [72]), chez un Iranien (ROWLAND [158]), un Juif séphardique (SZEINBERG [275]). Il a été démontré dans un cas de SANSONE. Par contre, deux sujets enzymopéniques de KIMBRO [145] toléraient le P.A.S. et les volontaires de BEUTLER le para-amino-phénol (très proche du méta-amino-phénol) [20].

ASPIRINE

Des volontaires enzymopéniques ne firent pas d'hémolyse avec une dose de 3 g 60 par jour d'acide acétyl salicylique, mais SZEINBERG rapporta un cas d'hémolyse chez un Juif Irakien et réalisa à cette occasion (1960) le test de stabilité du GSH avec de l'aspirine [268].

NAPHTALÈNE

Le naphthalène C_{10}H_8 , est toxique à fortes doses. Chez le chien, il provoque à la dose de 3 à 9 g une anémie importante avec corps de Heinz. Chez l'homme, sa toxicité est mal connue du fait que les produits responsables sont souvent impurs et qu'il existe un

facteur individuel, noté depuis longtemps. Les sources d'intoxication peuvent être: *thérapeutique*: le β naphtol a été très utilisé comme vermifuge et désinfectant intestinal en Allemagne et en Amérique du Sud; *accidentelle*: digestive [171 - 309 - 310] (enfants absorbant des boules de naphthaline); respiratoire (atmosphère polluée); transcutanée [59 - 235] (nourrissons enveloppés dans des langes imprégnées de naphthaline); transplacentaire [11 - 305] (femme absorbant de la naphthaline en cours de grossesse). Ces observations seront détaillées au chapitre « Nouveau-né ».

Ce sont les produits de dégradation de la naphthaline qui sont toxiques: α et β naphtol, α et β naphtoquinone. On les retrouve dans les urines des malades, urines qui ont comme les selles une odeur caractéristique (MACKELL, SKETOL).

La susceptibilité individuelle joue un rôle important, ce qui explique le petit nombre de cas publiés: 24 cas jusqu'en 1957 [69], 31 cas jusqu'en 1958 [47]. Les cas d'intoxication sont certainement plus nombreux: SMILIE [309] estimait en 1920 que 10 % des Noirs Brésiliens faisaient une hémolyse après β naphtol. Cette susceptibilité s'explique le plus souvent par le déficit enzymatique qui a été démontré par DAWSON [69], ZINKHAM [304], SANSONE [231 bis], GROSS [118], ANZIULEWICZ [11], MAC GOVERN [170], GILLES [104], SEGNI [247]. Le test des corps de Heinz a été réalisé avec du sérum de sujet ayant absorbé de la naphthaline; le test de stabilité du GSH avec les produits de dégradation de la naphthaline [306].

VITAMINE K₂

La vitamine K₂ (*Synkavit*) est une naphtoquinone ayant une formule proche de celle des produits de dégradation de la naphthaline. Nous discuterons longuement le problème des anémies hémolytiques à corps de Heinz qu'elle provoque chez les prématurés, au chapitre « Nouveau-né » [2 - 3 - 162]. Dans des cas beaucoup plus rares, le déficit enzymatique est responsable de l'anémie: ZINKHAM [305], SEGNI [158], DOXIADIS [82]. Le test de stabilité peut être réalisé avec la vitamine K₂ au lieu de l'A.P.H.; un homologue de la vitamine K₂, la ménadione sodium bisulfite, a été beaucoup utilisé dans ce but.

CHLORAMPHENICOL

Connu pour ses propriétés leucopéniantes, il est rarement responsable d'hémolyse. BRUNETTI en a rapporté 3 cas chez des Sardes avec mise en évidence du déficit enzymatique [45].

NITROFURANTOINE

Un de ses dérivés spécialisé sous le nom de Furadoïne est utilisé en France. WEST [294] rapporta en 1956 le premier cas d'hémolyse chez un Noir ; KIMBRO en 1957 démontra le déficit enzymatique chez deux Noirs et réalisa le test de stabilité avec le produit, mais ne réussit pas le test des corps de Heinz [46]. SONNET a aussi rapporté un cas chez un Noir Bantou [258].

FOUADINE

HARRIS [128] a rapporté une hémolyse provoquée par ce dérivé de l'antimoine chez un Portoricain. Il en a démontré l'origine immunologique : une deuxième série de piqûres fut faite 10 ans après une première série qui avait été très bien supportée. Il en fut de même des premières piqûres de cette deuxième série jusqu'au dixième jour où se produisit une hémolyse aiguë, avec présence d'anticorps. Bien qu'aucune étude biochimique ne fut pratiquée, cette observation est citée par de nombreux auteurs, du fait de la race du sujet, comme un cas d'anémie par déficit enzymopénique accompagné de facteurs immunologiques. On peut se demander si ces derniers ne sont pas les seuls en cause.

TRINITROLUÈNE

L'intoxication chronique se manifeste par la méthémoglobinémie. L'intoxication aiguë peut se traduire par une anémie hémolytique, LARIZZA en a rapporté trois cas avec déficit enzymatique [158].

QUINIDINE

On connaît un cas de BRUNETTI [41] avec réalisation du test de stabilité de GSH avec ce produit.

B.A.L.

TARLOV [48 - 280] a démontré son pouvoir hémolytique chez un sujet enzymopénique.

PYRIDIUM

Un cas de SMITH [255].

BÉNÉMIDE

KIMBRO [145] rapporte un cas de sujet enzymopénique sensible à la Bénémide (Probenicide).

BLEU DE MÉTHYLÈNE

Un cas de BREWER [48].

SUBSTANCES NON HÉMOLYTIQUES
POUR LES SUJETS ENZYMOPÉNIQUES

On n'a pas réussi à provoquer l'hémolyse chez des volontaires « sensibles » avec les médicaments suivants : Aniline, acide ascorbique, Pronestyl, acide paraaminobenzoïque, sulfothiazol, Sulfadiazine, Antistine [20].

Cette liste n'est pas limitative. Il faut rappeler que BEUTLER y ajoute : l'Aspirine, la Tifomycine et la Quinine qui, en clinique se sont révélées hémolytiques chez les sujets enzymopéniques.

CONCLUSION

L'enzymopénie semble potentialiser le pouvoir hémolytique minime qui existe dans de nombreuses drogues ; parfois elle n'est pas suffisante et il faut qu'intervienne, en plus, une maladie qui induit une fragilisation supplémentaire des hématies.

CHAPITRE III

Anémies hémolytiques provoquées par des substances végétales chez les sujets enzymopéniques

Certains végétaux contiennent des substances hémolytiques qui ne s'avèrent toxiques que si le végétal est consommé cru ou insuffisamment cuit. Le pouvoir toxique peut être caractéristique de la plante, agissant chez tout sujet qui en consomme ou ne se manifester que chez des sujets « prédisposés ». La première catégorie concerne les champignons de la famille des Discomètes operculés (morelles, helvelles et surtout gyromitres). La deuxième catégorie est beaucoup plus importante. Jusqu'à la découverte de l'enzymopénie, on ne parvenait pas à expliquer la susceptibilité particulière de certains sujets, et la possibilité pour eux de consommer impunément ces végétaux après avoir fait une crise hémolytique au cours d'une ingestion antérieure. La fève est le chef de file de ce chapitre qui comporte aussi les anémies provoquées par les petits pois, l'anagyre ou « bois puant » (*Anagyris foetida*) et la verveine (*Verbena Hybridum*).

TURCHETTI [20], en 1948, fit pour la première fois un rapprochement entre le favisme et l'anémie provoquée par la Primaquine. Dès lors, les Italiens retrouvèrent dans les familles de faviques, toutes les caractéristiques de l'anémie enzymopénique étudiée chez les Noirs Américains. La pathogénie du favisme et son hérédité ne furent cependant correctement expliquées qu'après la découverte d'un facteur protecteur sérique qui n'intervient pas pour la Primaquine. Alors qu'on étudia aux Etats-Unis les Noirs Américains, en Israël les Juifs Orientaux, en Italie les études furent faites surtout en Sardaigne, région où l'enzymopénie est très répandue,

LE FAVISME

DESCRIPTION CLINIQUE

Forme ictéro-hémoglobinurique

Dans les heures qui suivent l'ingestion de fèves crues, un enfant, le plus souvent du sexe masculin et d'origine méditerranéenne, présente une gastro-entérite avec violentes douleurs abdominales, rapidement suivie d'une anémie intense, fébrile, avec hémoglobinurie et ictère modéré. L'hémogramme montre une déglobulisation intense, aux environs de 2.000.000 d'hématies, parfois 800.000. Les examens de laboratoire confirment l'existence d'une hémolyse intense et de l'hémoglobinurie [29 - 31 - 38 - 62 - 79 - 81 - 85 - 106]. Les symptômes disparaissent en moins d'une semaine, mais la correction de l'anémie demande plusieurs mois s'il n'est pas fait de transfusions.

SANSONE [222], en 1958, a insisté sur les caractères particuliers des hématies au cours des premières heures du favisme: microcytose, anisocytose, poikilocytose et surtout corps de Heinz que l'on retrouve dans 50 à 70 % des hématies ou même 80 % d'après MATTIOLI. Les hématies porteuses de corps de Heinz disparaissent rapidement et, lorsque l'anémie apparaît cliniquement, les corps de Heinz qui annoncent la mort du globule rouge ne sont plus retrouvés.

La résistance globulaire aux solutions hypotoniques, aux facteurs mécaniques et chimiques est normale (MARCOLOGO). L'incubation avec des extraits de fève ne produit pas d'hémolyse. Les réactions immunologiques donnent des résultats variables suivant les auteurs. L'hémoglobine est normale chez ces sujets d'origine méditerranéenne.

Forme hémolytique suraiguë [39]

La mort survient en quelques jours par anémie intense ou par anurie secondaire à l'hémoglobinurie. Ces formes sont beaucoup moins fréquentes qu'autrefois du fait de la rapidité avec laquelle sont faites des transfusions massives ou des épurations extrarénales.

Forme mineure

Elle se traduit par un état de malaise avec céphalées souvent du type migraineux, vertiges et nausées. L'hémogramme peut mon-

trer une discrète anémie, mais jamais de corps de Heinz. Forme de l'adulte, elle survient le plus souvent après inhalation de pollen de fèves, mais aussi après ingestion de fèves crues.

La crise de favisme peut se traduire aussi cliniquement par un subictère, une gastro-entérite, de l'urticaire...

ETIOLOGIE [224]

Les fèves

Légumineuses de la famille des papillonacées, elles comprennent deux types: *Vicia faba major* L. ou fève des marais, *Vicia faba minor* ou fève des champs (févettes). Elles ne doivent pas être confondues avec les fèves de Calabar (*Physostigma venenosum*), Cultivées depuis l'antiquité en Perse et autour de la Mer Caspienne, elles se sont répandues dans tout le bassin méditerranéen. En France, on comptait, en 1929, 38.760 hectares cultivés en fèves, 27.220 en févettes contre 564.123 hectares en Italie. Les fèves sont consommées séchées et bouillies ou sous forme de farine, mais les enfants en mangent souvent crues.

Le principe nocif existe dans diverses parties de la plante: la fève crue essentiellement, mais aussi les gousses, les feuilles et le pollen. On ne note pas de différence de nocivité entre les divers types de fèves. La fève crue est responsable des crises ictéro-hémoglobinuriques, les autres éléments donnent des hémolyses beaucoup moins graves et surtout des tableaux migraineux. L'atteinte peut se faire de façons variées et la sensibilité est souvent extraordinaire: on a rapporté le cas de sujets faisant une crise chaque fois qu'ils se promenaient à 100 mètres d'un champ de fèves à la période de la floraison ou lorsqu'ils épluchent des gousses de fèves. Le principe nocif est détruit par la chaleur et la consommation de fèves bouillies est sans danger. Il passe dans le lait des nourrices [168 - 89] ou des chèvres [266] qui en consomment, déterminant une anémie hémolytique grave chez le nourrisson allaité. Cette découverte est très intéressante, car elle éclaire d'un jour nouveau la question très discutée des anémies provoquées par le lait de chèvres; le favisme mérite d'être considéré comme une des étiologies les plus fréquentes de ces anémies dans les pays où se trouvent rassemblées l'existence de l'enzymopénie dans la population et la culture de la fève.

Répartition géographique du favisme

Le favisme est une affection fréquente en Sardaigne qui constitue le foyer le plus important de la maladie. Les observations

publiées ne reflètent qu'une minime partie des cas. CROSBY estime qu'en Sardaigne le favisme entraînait au début du siècle plus de 250 décès par an. En 1956, il y mourait autant d'enfants de favisme que de leucémie [67]. L'affection est rencontrée tout le long du littoral méditerranéen: Italie du Sud, Sicile, Corse, Grèce, Israël, Liban, Turquie, Baléares... Il existe, en dehors des rivages méditerranéens, quelques cas autochtones incontestables: Chine, Bulgarie, Angleterre. Les autres cas publiés notamment en France concernent le plus souvent des sujets d'origine Sarde, l'île ayant un gros potentiel d'émigration.

BRULE et PESTEL [38 - 39] ont rapporté en 1943 les premiers cas observés en France. SURINYACH et BADETTI ont étudié la maladie en Corse [196].

Influence de l'âge et du sexe

Les troubles sont d'autant plus graves et plus fréquents que l'enfant est plus jeune. Sur 67 cas hospitalisés, JOANIDES [224] n'en avait que 5 de plus de 5 ans et 39 entre 1 an 1/2 et 3 ans. Les jeunes garçons sont atteints dix fois plus souvent que les filles mais, avec l'âge, on assiste à une égalisation dans les deux sexes.

Si les adultes font beaucoup plus souvent des formes mineures de favisme que des formes anémiques, on en a cependant rapporté des cas graves. SZEINBERG [273] a observé un Juif de 74 ans venant d'une région de la Perse où on ne cultivait pas de fèves, qui en mangea pour la première fois en Israël et fit une anémie à moins de 1.000.000 de G. R. Cette observation est très intéressante, car elle nous montre que les crises hémolytiques aiguës faviques de l'adulte surviennent électivement chez des sujets qui n'avaient pas eu l'occasion jusque là de consommer des fèves.

Prédisposition familiale

Il existe une sensibilité individuelle à la fève et celle-ci revêt un caractère héréditaire. Cette prédisposition familiale a été remarquée depuis longtemps par les Sardes, mais l'étude des arbres généalogiques n'avait pas permis, jusqu'à la découverte du déficit enzymatique, d'affirmer la transmission génétique.

PATHOGENIE [224]

Diverses théories ont été défendues, mais aucune ne réussit avant la théorie enzymopénique à expliquer de façon satisfaisante les particularités suivantes: la susceptibilité individuelle, caractère héréditaire.

ditaire; la survenue de l'hémolyse dès le premier contact avec la fève, avec possibilité ensuite, pendant quelque temps, de manger des fèves impunément; la plus grande nocivité de la fève crue.

Théorie toxique

L'existence de corps de Heinz dans les hématies au début de l'hémolyse a été interprétée en faveur d'un processus toxique [184]. Les fèves renferment des principes toxiques: la vicianine qui est un glucoside cyanogénétique, mais qui existe en quantité trop faible pour que l'on puisse invoquer une intoxication cyanhydrique; la phasine, produit thermolabile qui a des propriétés agglutinantes, hémolysantes et antigéniques.

Tocco [224] essaya d'expliquer pourquoi l'absorption de fèves crues n'était pas toujours toxique en disant que les substances à pouvoir hémolytique ne faisaient pas partie de la structure chimique de la fève, mais s'y formaient ou non sous l'influence de facteurs exogènes: lumière, etc... Seuls certains lots de fève seraient toxiques; VERAS [287] a remarqué que les cas de favisme ne surviennent en Grèce que par épidémies de quelques jours, alors que l'on consomme des fèves crues pendant plusieurs mois; mais LARIZZA et CARCASSI ne pensent pas qu'il en soit ainsi en Sardaigne. Pour eux, les réponses diverses à l'absorption de fèves dépendent non de la qualité de la fève, mais de la susceptibilité particulière du receveur.

Théorie allergique

En sa faveur, on a avancé les arguments suivants: L'hémolyse favique ressemble à un phénomène allergique, car la quantité de fèves absorbées n'intervient pas; ceci est encore plus net pour les crises survenant par inhalation de pollen ou après une cuti-réaction avec un extrait de fève. La fève peut être à l'origine de manifestations allergiques typiques: asthme, urticaire. La phasine, un des principes nocifs est une protéine douée d'un important pouvoir antigénique. Les faviques présentent souvent une diathèse allergique (dont on sait le caractère héréditaire).

Mais les enquêtes allergologiques (cuti, intradermo-réactions à l'extrait de fève) ont donné des résultats contradictoires suivant les auteurs, qu'expliquent peut-être les variations de qualité des antigènes utilisés [242]. C'est ainsi que SURINYACH, sur 29 faviques, a eu une seule cuti positive, 13 douteuses et 15 négatives.

En tous cas, le processus d'anaphylaxie n'intervient pas, la crise survenant souvent à la première exposition.

Théorie immunologique

Là encore on retrouve des résultats très contradictoires [99]. MARCOLONGO, étudiant le sang des faviques en crise, a trouvé en 1953: 91 fois sur 121 un test de Coombs direct positif, 98 fois sur 121 un test de Coombs indirect positif [54]. SANSONE et SEGNI ont fait ces tests chez 11 des 22 faviques qu'ils étudiaient et les ont toujours trouvés négatifs.

MARCOLONGO, contrairement à FRADA, n'a jamais pu isoler d'hémolysine et a toujours trouvé le test de Donath et Landsteiner négatif.

Les fèves comme les autres légumineuses contiennent des « phytoagglutinines » [53] qui agglutinent les hématies humaines des groupes A et O. Les fèves possèdent en plus comme l'ont prouvé CREGER et GRIFFORD, des agglutinines qui n'agissent que sur les hématies des sujets faviques, mais cette agglutination ne survient qu'en présence d'une solution diluée d'acacia (1952).

CABANES, lui, a extrait du suc des cotylédons de fève des phytoagglutinines dont le taux est parallèle à l'hémolyse qu'elles déterminent.

ROTH [220] en 1960 a isolé à partir d'extraits de fèves une agglutinine thermostable, une agglutinine thermolabile et une hémolysine.

KANTOR [139], en 1959, a isolé dans le sang de faviques, au moment de l'acmé de la crise hémolytique, et dans le sang de lapins immunisés contre l'antigène favique, des anticorps incomplets qui n'agglutinent que des hématies traitées par l'acide tannique et incubées avec un extrait de fève.

Association de divers facteurs

Aucune de ces théories n'étant satisfaisante et les essais de réalisation d'un favisme expérimental chez l'animal se soldant par un échec, on fut amené à associer les diverses théories: SURINYACH en 1951 estimait que, suivant la sensibilité particulière du favique, il fallait plus ou moins d'auto-anticorps. SANSONE et SEGNI en 1958 parlaient d'idiosyncrasie toxique.

Théorie enzymopénique

La sensibilité aux fèves résulte d'une anomalie congénitale intrinsèque des hématies. La démonstration en a été faite par VULLO avec des hématies marquées: des hématies normales injectées à des sujets faviques en crise ne sont pas détruites, alors que des hé-

maties de sujet favique en rémission injectées à un receveur sain, mangeant des fèves, sont détruites (mais pas dans tous les cas, nous verrons plus loin que les sujets normaux, peuvent ou non avoir dans leur sérum un facteur protecteur qui s'oppose à l'hémolyse favique).

Dès 1948, TURCHETTI [20] fit le rapprochement entre le favisme et l'anémie hémolytique provoquée par la primaquine. Dans les années suivantes, on mit en évidence chez les faviques toutes les anomalies découvertes chez les Noirs Américains sensibles à la Primaquine [47] :

Les modifications du métabolisme du Glutathion:

— diminution du GSH sanguin lors de la crise de favisme (SANSONE et SEGNI en 1956) [201] ;

— diminution du GSH en dehors des crises chez des sujets ayant des antécédents de favisme (SANSONE, 1956-57) [223-225]. Mais comme dans le cas de l'anémie provoquée par la Primaquine, cette diminution n'est vraie que statistiquement : chez un favique donné, on peut trouver toutes les valeurs possibles et même un taux normal ;

— remontée du GSH dans les jours qui suivent l'hémolyse jusqu'à des valeurs parfois subnormales, car on dose alors le GSH des hématies jeunes et des réticulocytes (et souvent celui des hématies normales transfusées) [113 - 202] ;

— instabilité du GSH diagnostiquée avec le test de Beutler. SANSONE et SEGNI, en 1957, la retrouvent chez les faviques et chez leurs parents sains [226 - 266]. Ils retrouvent dans ces familles une répartition différente suivant le sexe : bimodale chez les hommes qui sont soit hypersensibles, soit normaux ; continue chez les femmes qui sont très souvent « intermédiaires ».

L'instabilité du GSH n'est souvent pas retrouvée dans les jours qui suivent la crise hémolytique. BRUNETTI (1956) trouve 8 sujets stables et 10 intermédiaires sur 22 étudiés du 10^e au 33^e jour après la crise [44 - 301]. Cette constatation n'est jamais faite en cas d'anémie provoquée par la Primaquine où l'hémolyse est relativement modérée, tandis que lors d'une crise ictéro-hémoglobinurique favique l'hémolyse est intense.

En 1961, BOWMAN [34, 290] a réalisé le test de stabilité du GSH avec un extrait de fève fraîche, ainsi qu'avec le pollen, le pistil ou la fève entière. Des tentatives semblables avaient déjà été faites par d'autres auteurs, mais elles s'étaient soldées par l'échec.

L'incorporation de la glycine marquée se fait très mal dans le GSH de l'hématie favique (SZEINBERG, 1958) [265]), ce qui signe un défaut de synthèse du GSH.

Le GSSG n'augmente pas pendant la crise, ce qui prouve que la molécule du GSH est détruite et non oxydée (LARIZZA, 1958, SZEINBERG, 1957 [267].

La formation de corps de Heinz après incubation des hématies avec de l'A. P. H. (LARIZZA, 1958) - [12].

Le déficit en G.6P.D.

Découvert par LARIZZA en 1958 [160 - 231 - 273 - 307] il fut bien étudié par CARCASSI en 1958:

31 témoins	ont un taux moyen: 174,3 unités/100 cc
56 parents de faviques	ont un taux moyen: 98,0 unités/100 cc
28 faviques	ont un taux moyen: 11,6 unités/100 cc

CARCASSI [47] a trouvé dans 105 cas une parfaite correspondance entre l'instabilité du GSH et le déficit enzymatique. Dans un seul cas de favisme il n'a pas retrouvé le déficit enzymatique.

Les autres modifications enzymatiques

— L'aldolase est légèrement augmentée surtout dans la phase post-critique (LARIZZA, 1958) [40 - 42].

— La deshydrogénase isocitrique, dont l'activité est liée au taux de TPNH, est diminuée (GRIGNANI) [113 bis].

La sensibilité des faviques aux médicaments qui entraînent une hémolyse chez les sujets sensibles à la Primaquine :

LARIZZA réalise une hémolyse chez un ancien favique en lui donnant de la Primaquine [161 - 197].

SZEINBERG [273] rapporte l'observation d'une famille juive du Yemen dont un membre avait fait successivement une hémolyse médicamenteuse (Sulfapyridine) et un favisme; un autre uniquement du favisme, et un troisième une anémie d'origine médicamenteuse.

Le facteur protecteur sérique

Parmi des parents de faviques, 40 % de ceux qui ont un déficit enzymatique font une anémie hémolytique après ingestion de Primaquine, mais restent insensibles à la fève (LARIZZA) [164].

Les expériences de transfusions d'hématies marquées ont montré que des hématies de faviques transfusées à des receveurs normaux absorbant des fèves crues ne sont pas toujours hémolysées (VULLO) [288].

Pour LARIZZA pourraient intervenir en plus du déficit enzymatique: soit une « meiotropie fonctionnelle de la muqueuse gastri-

que », mais cela n'explique pas les favismes provoqués par l'inhalation de pollen ou pourquoi un favique supporte des fèves crues, quelque temps après sa crise ; soit une dégradation différente de la fève suivant les organismes, les métabolites de la fève étant responsables du favisme et non la fève elle-même (à l'image de ce qui se passe pour l'anémie provoquée par la naphthaline) ; soit, et nous retrouvons la théorie toxique de Tocco, que la fève ne devienne hémolysante qu'après avoir été modifiée par des facteurs exogènes (lumière, chaleur, etc...).

ROTH [220] en 1960 découvre que le sérum des sujets faviques manque d'un facteur protecteur. Il faut donc pour réaliser un favisme, réunir trois facteurs : la fève et un receveur ayant à la fois un déficit en G.6P.D. et en facteur protecteur sérique. ROTH utilise la réaction décrite par CREAGER et GRIFFORD [65] : il met en suspension des globules rouges normaux lavés dans un extrait salin de fèves et réalise leur agglutination par une solution diluée d'acacia. Cette agglutination est inhibée si on adjoint du sérum normal, alors que le sérum de favique en crise ou en rémission n'a pas ce pouvoir.

Conclusion : la pathogénie du favisme semble maintenant découverte : la fève crue a un pouvoir hémolytique latent qui ne se manifeste cliniquement que chez des sujets ayant deux anomalies congénitales du sang : le déficit des hématies en G.6P.D. et l'absence d'un facteur protecteur sérique.

Cette théorie explique de façon satisfaisante toutes les particularités du favisme : le caractère racial et familial ; l'atteinte élective des jeunes : avec l'âge, il se produit du fait des contacts répétés avec les fèves une sorte de mithridatisation ou de désensibilisation. Une autre explication est aussi possible : les adultes, ayant fait une crise de favisme dans leur enfance et instruits des dangers qu'ils courent, ne font plus de crises hémolytiques car ils s'abstiennent de consommer des fèves crues. Ils ne font plus que des crises mineures résultant de contacts inévitables avec la fève (inhalation de pollen, etc...).

Le mécanisme intime de l'hémolyse est probablement le même que celui de l'anémie provoquée par la Primaquine.

ETUDE GENETIQUE

La transmission héréditaire a toujours été soupçonnée en Sardaigne où l'on connaissait des familles de faviques, mais le mode de transmission restait inexplicable du fait que l'on n'étudiait que le phénotype, le favisme. La première étude génétique sérieuse fut faite en 1951. MARCOLONGO, étudiant 132 familles de faviques, trouve dans 60,6 % des cas une transmission héréditaire et conclut

à la plus grande probabilité d'une hérédité dominante ou semi-dominante que d'une hérédité récessive [47]. MURANO (1951) retrouve plus souvent une filiation maternelle que paternelle.

La découverte du génotype, l'enzymopénie, permit une étude génétique plus fine. SARTORI en 1957 [234], étudiant 116 fratries en dosant le GSH sanguin, conclut à la transmission d'un gène autosomique « Fa » ayant deux allèles, un dominant Fa, normal, et un récessif fa anormal. Seuls les homozygotes « fa.fa » seraient des crises de favisme. Des études plus valables utilisant le test de stabilité du GSH ou le taux de G.6P.D. amènent à conclure à la probabilité d'une transmission héréditaire identique à celle de l'anémie provoquée par la Primaquine [228 - 233].

CARCASSI a étudié, en 1958, 17 familles de faviques comptant 110 sujets dont 99 purent être examinés [47]. L'incidence du favisme était de 21 % : 32 % des hommes, 9 % des femmes ; l'incidence de l'enzymopénie de 44 % : 53 % des hommes, 16 % des femmes. Les hommes étaient soit normaux, soit hypersensibles ; les femmes normales, intermédiaires ou hypersensibles.

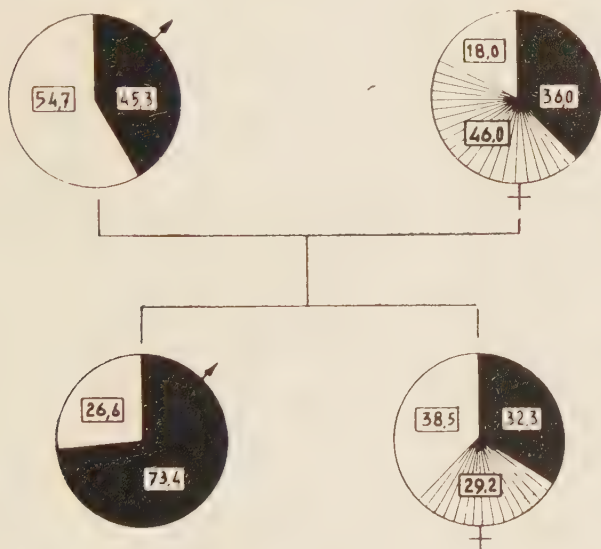


FIG. 5.

Distribution du déficit enzymatique, parmi les membres de 54 familles de sujets faviques, étudiées par LARIZZA [158].

On note une nette prédominance du déficit chez les mères, à la génération des parents et chez les fils, à la génération des enfants.

L'étude de 105 Sardes des deux sexes choisis au hasard montrait [229] : 11,5 % de faviques dont : 18,3 % des hommes, 5,2 % des femmes ; 23,9 % de sujets enzymopéniques dont : 24 % d'hommes hypersensibles, 7 % de femmes hypersensibles, 15,9 % de femmes intermédiaires.

L'étude des arbres généalogiques de ces familles a permis à CARCASSI de démontrer que la transmission héréditaire de l'enzymopénie se faisait suivant les mêmes lois dans ces familles de faviques que dans celles des sujets Noirs Américains sensibles à la Primaquine, étudiées par CHILDS : hérédité liée au sexe, avec dominance incomplète de l'allèle mutant X sur l'allèle normal x, entraînant une expressivité diminuée dans le sexe féminin. Cette expressivité, diminuée dans le sexe féminin, explique pourquoi on a pu décrire des cas de transmission de la tare d'un père taré, marié à une femme normale, à son fils, ce qui ne concorde pas avec une hérédité liée au sexe. La mère est en fait conductrice [47].

Ceci a été aussi confirmé par SINISCALCO qui, en étudiant des villages sardes [253] où l'on rencontre avec une grande fréquence le déficit enzymatique et le daltonisme, tare héréditaire liée au sexe, a pu démontrer une liaison entre les deux gènes.

AUTRES ANEMIES HEMOLYTIQUES PROVOQUEES PAR DES VEGETAUX CHEZ LES SUJETS ENZYMOPENIQUES

A la fin du siècle dernier, en même temps que l'on découvrait le favisme, on décrivait des anémies hémolytiques provoquées par d'autres végétaux.

En 1950, CARCASSI [47] publia un cas d'anémie provoquée par l'*anagyre* (*Anargyris foetida*) chez un sujet qui appartenait à une famille de faviques, mais évitait de consommer des fèves crues. Sa mère et une de ses sœurs avaient fait une crise de favisme, une autre sœur avait fait une anémie après avoir consommé des petits pois.

En 1951, CARCASSI publiait 7 autres cas sardes d'anémie provoquée par des *petits pois*. On en vint à dénommer « hémolyse alimentaire » (SURINYACH) une sensibilité polyvalente aux fruits et pollen des fèves, petits pois, figues, asperges et haricots.

Le déficit enzymatique a été retrouvé dans le cas d'anémie par les petits pois et l'*Anargyris foetida* et dans deux familles étudiées par LARIZZA [158] : Un garçon ayant fait un ictère hémolytique après avoir mangé des petits pois frais est « hypersensible », de même que sa mère et son frère qui avait fait une crise de favisme.

Un garçon de 3 ans fait une crise identique et est « hypersensible ». Sa mère et sa sœur sont intermédiaires. Il n'y a pas de cas de favisme dans la famille.

Il est très vraisemblable que « l'anémie printanière de Bagdad » décrite par LEDERER en 1940 [163] et qu'il rapportait à une origine végétale, est due à l'enzymopénie. Ces cas concernaient en effet des Juifs Iraniens chez qui la fréquence de l'enzymopénie est très grande et l'époque de l'année où survenaient ces hémolyses correspond à la floraison de « *Verbena hybrida* », la *verveine*.

LARIZZA et SANSONNE estiment que d'autres végétaux sont responsables de cas sporadiques d'anémie hémolytique chez des sujets enzymopéniques : pois chiches, grenade, lupin, artichauts. Toutefois, BOWMAN [34] qui a réussi à réaliser le test de stabilité du GSH avec des extraits frais de fèves, a échoué avec des extraits d'autres végétaux, en particulier de petits pois.

CHAPITRE IV

Le nouveau-né et le nourrisson

ROLE DE L'INSTABILITE TRANSITOIRE, NEONATALE, DU GSH DANS LES ANEMIES A CORPS DE HEINZ PROVOQUÉES PAR LA VITAMINE K₂ CHEZ LE PRÉMATURÉ

Depuis l'observation princeps de GASSER en 1948, de nombreux cas d'anémie hémolytique à corps de Heinz ont été décrits chez des prématurés nouveaux nés [167 - 230 - 285]. ALLISON en 1955 a démontré que ces anémies étaient provoquées par la vitamine K₂ injectée par voie intramusculaire [2 - 3 - 6].

Le premier cas de GASSER concernait un prématuré qui avait reçu 20 mg de Synkavit pendant 3 jours, puis 10 mg pendant 10 jours. Une anémie hémolytique apparut avec des corps de Heinz dans 50 % des hématies. Il n'y avait ni hépato-splénomégalie, ni anti-corps. La mort survint le 18^e jour, dans un tableau d'ictère nucléaire confirmé par l'autopsie. GASSER, en 1953, en publiait 14 cas, la plupart sans signe d'ictère nucléaire avec guérison spontanée à la troisième semaine. Il concluait à une difficulté d'adaptation du prématuré et éliminait une intoxication par le Synkavit, car il ne trouvait pas de parallélisme entre le degré de l'hémolyse et la dose de Synkavit. Les corps de Heinz ne lui semblaient pas provoqués par un mécanisme toxique, mais être la conséquence d'une immaturité de la rate [295] ; on peut d'ailleurs en retrouver chez des nouveau-nés normaux [37 - 61 - 295].

ALLISON, en 1955, rapporta le cas de deux jumeaux dont un seul reçut du Synkavit (185 mg en 10 jours) pour une maladie hémorra-

gipare néonatale. Le troisième jour, il développa une anémie hémolytique qui nécessita deux transfusions et guérit; sur les lames de sang, on notait de nombreuses anomalies cellulaires: anisocytose, cellules cibles, cellules fragmentées, microsphérocytes, granulations basophiles, érythroblastes. En faisant une coloration vitale pour rechercher les réticulocytes, de très nombreux corps de Heinz furent mis en évidence. L'autre jumeau qui n'avait pas reçu de Synkavit ne présenta pas d'anémie. ALLISON rendit le Synkavit responsable de l'ictère nucléaire mortel qu'il observa chez un autre prématuré de 1 225 g. Depuis lors, il diminua les doses de Synkavit qu'il donnait aux prématurés et n'eut plus d'autres accidents.

Il semblait donc exister une susceptibilité particulière à la vitamine K₂ chez certains prématurés seulement; les nouveau-nés à terme ne font jamais de telles anémies et beaucoup de prématurés ont reçu de fortes doses de vitamine K₂ sans en présenter. Il était tentant d'incriminer à l'origine de ces anémies hémolytiques un déficit passager de production de la G.6P.D. à l'image de ce que l'on connaît pour d'autres enzymes pendant la période néonatale, notamment pour la glycuronyl-transférase. Cette hypothèse parut tout d'abord confirmée par les travaux de ZINKHAM, qui mit en évidence une instabilité transitoire du GSH pendant les premières heures de la vie, non seulement chez les prématurés mais aussi chez tous les nouveau-nés. Mais comme nous le verrons plus loin, une autre interprétation de cette instabilité est possible.

L'INSTABILITÉ TRANSITOIRE NÉONATALE DU GSH

Le taux de GSH est en moyenne de 79,7 mg/100 ml d'hématies dans le sang du cordon; il est donc supérieur au taux rencontré chez les femmes en travail (69,6 mg) (SZEINBERG). Le GSH du cordon est stable [270 - 271 - 246].

ZINKHAM [302 - 305] étudiant 66 nouveau-nés a trouvé une instabilité dans 20 cas sur 20 de la première à la douzième heure de la vie; dans 12 cas sur 20 à la vingt-quatrième heure, 14 cas sur 17 à la trente-sixième heure et 4 cas sur 9 à la quatre-vingt-quatrième heure. La chute du GSH après incubation avec l'APH est d'autant plus marquée que le sujet est plus jeune [246].

Le test de stabilité pouvant être réalisé avec la vitamine K₂ [305], la pathogénie de ces anémies hémolytiques paraissait démontrée. On pouvait cependant s'étonner de la relative rareté de ces anémies, alors que l'instabilité transitoire intéressait tous les nouveau-nés au cours des douze premières heures et plus de 50 % ensuite. Il fallait également expliquer l'atteinte élective des prématurés,

MÉCANISME DE L'INSTABILITÉ TRANSITOIRE

En fait l'adjonction de glucose protège le sang du nouveau-né contre l'A.P.H. (SZEINBERG, 1958) [271]. L'instabilité transitoire n'est retrouvée que si l'on prélève le sang sur héparine; en le prélevant sur A.C.D. (acide citrate dextrose) elle n'existe pas.

Par une série d'expériences, ZINKHAM [302] a démontré que le mécanisme de l'instabilité transitoire néonatale du GSH était différent de celui de l'instabilité permanente, d'origine génétique. Il prouva d'abord que les hématies étaient seules responsables de l'instabilité du GSH et non le plasma du nouveau-né: il retrouva l'instabilité en pratiquant le test sur des hématies néonatales, en suspension dans du plasma d'adulte. Il élimina ensuite une diminution transitoire du taux des enzymes du métabolisme du glucose et du glutathion [115]: contrairement à ce qui se passe pour beaucoup d'autres enzymes [84 - 154] pendant la période néonatale, on trouve ici une augmentation de la G.6P.D. [114], de l'aldolase et de la glutathion-réductase. Cette élévation est encore plus accentuée chez le prématuré. Cette particularité est due à l'existence de très nombreuses hématies jeunes, riches en enzymes. L'hémoglobine fœtale n'intervient pas dans ce phénomène.

Après avoir éliminé l'action de l'hypovitaminose E, ZINKHAM démontra qu'il existait une corrélation entre l'appauvrissement en sucre du sang en incubation et l'action de l'APH sur le GSH, chez le nouveau-né. Pour l'étudier, il faut remplacer, dans le test de stabilité de Beutler, l'APH par un dérivé de la vitamine K₂: la menadione sodium bisulfite. (L'APH réagissant avec le glucose pour donner des osazones, empêche le dosage de la glycémie.) Pendant l'épreuve, le GSH diminue au cours de la première demie heure, puis reste en plateau aux environs de 60 mg jusqu'au moment où la glycémie baisse à 100 mg o/oo, ce qui se produit après 75 minutes d'incubation. Le GSH devient alors rapidement instable. Chez l'adulte normal ce n'est qu'à la cinquième heure d'incubation que la glycémie atteint 100 mg o/oo, entraînant l'effondrement du GSH. Chez le sujet porteur d'un déficit enzymatique d'origine génétique, le GSH chute rapidement et tombe à 10 mg % alors que la glycémie est encore à 880 mg o/oo.

Si la glycémie intervient dans l'instabilité transitoire du nouveau-né, elle n'est pas suffisante pour déclencher le phénomène: l'APH ou un de ses homologues est indispensable: Le GSH reste stable si le sang est prélevé sur ACD ou sur héparine enrichie en sucre.

Il reste stable si on le fait incuber sur héparine, mais sans APH pendant plusieurs heures à 37°, même lorsque la glycémie devient inférieure à 100 mg o/oo, mais il s'effondre immédiatement si on ajoute de l'APH.

Comment agit l'APH? On ignore son action chez le sujet « hypersensible » par déficit enzymatique congénital. Chez le nouveau-né, il exagère la glycolyse sans détruire les enzymes et cofacteurs du métabolisme du GSH. Si, au bout de deux heures d'incubation, on rajoute du glucose, le taux du GSH remonte; deux heures plus tard il atteint un taux intermédiaire entre le taux initial et celui de la deuxième heure alors que, sans glucose, ce taux continue à s'effondrer.

Peut-on considérer l'instabilité transitoire du GSH uniquement comme un artéfact de technique? Il ne semble pas. Elle traduit la glycolyse exagérée des hématies néonatales; celle-ci peut devenir dangereuse en raison de l'hypoglycémie néonatale physiologique; mais cette dernière n'atteint jamais le chiffre de 100 mg o/oo [90]. Cependant ZINKHAM estime qu'en cas d'intoxication chez le nouveau-né, il est important de corriger l'hypoglycémie.

MÉCANISME D'ACTION DE LA VITAMINE K₂ [14, 33]

Les doses administrées aux prématurés étaient beaucoup trop fortes et leur toxicité était encore augmentée du fait de l'immaturité des mécanismes de désintoxication. Les expériences chez l'animal ont démontré le pouvoir hémolytique des fortes doses de vitamine K₂, surtout lors d'administration intra-musculaire. MOORE et SHARMAN [6] ont démontré que la carence en vitamine E augmentait la toxicité de la vitamine K₂, chez le rat où elle provoque une anémie avec corps de Heinz et hémoglobinurie. L'hypovitaminose E existe chez le prématuré, mais ALLISON estime que l'on ne peut comparer le cas du rat carencé et celui du prématuré. Le tableau réalisé chez le rat est surtout celui d'une hémoglobinurie; il y a très peu de corps de Heinz. Pour obtenir l'hémolyse, il faut que la carence en vitamine E soit totale et dure plus de 70 jours; l'avitaminose peut, à elle seule, entraîner l'hémoglobinurie en lésant le rein.

La vitamine K₂ semble agir en oxydant l'hémoglobine et c'est à cause de son pouvoir anti-oxydant que l'on attribuait un rôle protecteur à la vitamine E. Il se peut aussi qu'elle entraîne un trouble de la glycuro-conjugaison hépatique; il existe un parallélisme entre les doses de vitamine K₂ et l'hyperbilirubinémie constatée. On conçoit que le prématuré qui a une glycuro-conjugaison imparfaite puisse faire un ictère nucléaire après injection de vitamine K₂.

La vitamine K₁ n'est absolument pas toxique, quelque soit la dose administrée chez l'animal d'expérience ou chez le prématuré [296 - 86].

En conclusion, l'instabilité transitoire, néonatale, du GSH n'est qu'un artéfact, dû à la glycolyse exagérée des hématies néonatales et

ne peut expliquer la survenue d'anémies hémolytiques après injection de vitamine K₂. La vitamine K₂ provoque une anémie chez le prématuré, lorsqu'elle est donnée à une dose toxique. Si tous les prématurés ne réagissent pas de la même façon pour une dose donnée, c'est parce que les mécanismes de neutralisation des toxiques sont plus immatures chez certains, mais dans ces mécanismes le GSH n'intervient pas. L'analogie avec d'autres déficits enzymatiques passagers de la période néonatale est erronée; toute instabilité du GSH, constatée à cet âge sur un sang prélevé sur A.C.D., correspond à un déficit en G.6P.D. d'origine génétique, qui existera toute la vie, mais qui peut avoir de graves conséquences pendant la période néonatale. C'est ce que nous allons étudier dans le chapitre suivant.

LES ICTERES NEONATAUX DUS AU DEFICIT EN G.6P.D.

Le problème des ictères néonataux et, en particulier, celui des ictères graves, se pose de façon différente suivant les pays. Alors qu'en France la majorité des ictères graves sont provoqués par l'iso-immunisation fœto-maternelle ou la prématurité, les études de PANIZON en Sardaigne [198], de DOXIADIS en Grèce [82] et de SMITH et de WEATHERWALL [255, 292], à Singapour, ont montré que dans ces pays, la majorité des ictères graves était composée de cas familiaux survenant dans des familles à déficit en G.6P.D. Le rôle exact du déficit dans la pathogénie de ces ictères n'est pas encore élucidé; comme nous le verrons au chapitre « Pathogénie », le déficit en G.6P.D. existe dans d'autres tissus que le sang et il se pourrait que le déficit enzymatique hépatique ait une responsabilité plus importante que le déficit érythrocytaire. Le déficit érythrocytaire est au contraire au premier plan dans les ictères néonataux provoqués par des médicaments, connus pour être hémolytiques chez les sujets enzymopéniques et dans les très rares cas où l'ictère néonatal est la première manifestation d'une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire enzymopénique. Chez les Noirs Américains [180] dont les cellules hépatiques n'ont jamais de déficit en G.6P.D., les cas d'ictères néonataux enzymopéniques sont rares et ne reconnaissent que ces dernières étiologies. Nous commencerons par étudier ces ictères néonataux puisque leur pathogénie est moins mystérieuse.

Ictères hémolytiques d'origine médicamenteuse [158]

On doit éliminer de cette étude les accidents provoqués par des corps qui sont toxiques chez le nouveau-né et prématuré, du fait de l'immaturité des processus de détoxication (glycuro-conjugai-

son...) ou parce qu'ils ont été donnés à des doses trop importantes par rapport à la surface corporelle : ictères du Synkavit par exemple. Seules peuvent être retenues les substances qui sont connues pour n'être hémolytiques que chez les sujets enzymopéniques. L'atteinte peut se faire avant la naissance par voie transplacentaire. Après la naissance, le nouveau-né peut être intoxiqué de diverses manières : lait de nourrice ou de chèvre ayant absorbé une de ces substances, médicaments, absorption transcutanée souvent favorisée par l'existence de produits de toilette huileux étendus sur la peau. Ces ictères d'origine médicamenteuse sont uniquement hémolytiques. Ils ont un excellent pronostic et ne nécessitent que rarement une exsanguino-transfusion.

Ictères de la naphthaline

L'origine en est souvent soupçonnée du fait de l'odeur caractéristique des urines et des selles.

ZINKHAM, 1957 [305] : un nouveau-né, de race noire, pesant 2 600 g, devient ictérique à la huitième heure avec une bilirubine non conjuguée à 22 mg %. Hépatosplénomégalie. Exsanguino-transfusion à la 36^e heure. Guérison. La mère et l'enfant ont le déficit enzymatique ; la mère, pendant le dernier mois de sa grossesse, avait « pour satisfaire ses envies » respiré et grignoté des boules de naphthaline ; elle avait, elle aussi, une anémie avec une hémoglobine à 59 g o/oo.

DAWSON, 1958 [69] : deux nouveau-nés, de race noire, dont les langes étaient imprégnés de naphthaline. Le premier, de sexe masculin, développe un ictère, le septième jour, avec anémie intense (58 g d'hémoglobine o/oo), corps de Heinz, bilirubinémie à 14 mg %. Rendu à ses parents, il fait une rechute, l'atmosphère de l'appartement étant riche en émanations de naphthaline. Le deuxième enfant, de sexe féminin, commence son ictère le onzième jour avec une bilirubine non conjuguée à 18 mg % et une anémie intense à 2 640 000 et 96 g o/oo d'hémoglobine. Guérison en trois semaines des deux enfants, après transfusions.

DOXIADIS, 1960 [82] : un cas chez un nouveau-né grec.

D'autres cas ont été rapportés, sans études biochimiques mais les circonstances d'apparition et la race des nouveau-nés sont en faveur d'une enzymopénie.

SCHAEFFER, 1951 [235] : ictère et hémoglobinurie entraînant le décès, à six jours, d'un nouveau-né, de sexe féminin, dont les langes étaient imprégnés de naphthaline.

COCK, 1957 [59] : même étiologie. Ictère hémolytique chez un nouveau-né, chinois, de onze jours, 20,7 mg % de bilirubine totale, 45 g o/oo d'hémoglobine, 1 100 000 hématies.

ANZIULEWICZ, 1959 [11] : anémie à la naissance (3 560 000 hématies, 130 g o/oo d'hémoglobine); ictère le troisième jour. La mère était elle-même anémique (1 790 000 hématies, 52 g o/oo d'hémoglobine), ayant absorbé des boules de naphthaline. Guérison en six semaines.

FABIAN [69] : nouveau-né placé dans une atmosphère riche en naphthaline.

Ictères provoqués par d'autres substances

Lait d'une nourrice qui avait subi un traitement sulfamidé (SEGNÉ) [158].

Injection de vitamine K₂, à une dose inférieure à celles responsables des intoxications :

moins de 5 mg - SEGNÉ, DOXIADIS [158 - 82]

10 mg - ZINKHAM [302].

Il n'a pas été rapporté de favisme néonatal, mais on connaît des cas de nourrissons intoxiqués par le lait de leur nourrice [89] ou de chèvres ayant mangé des fèves crues [158]. C'est là une des étiologies des anémies provoquées par le lait de chèvre.

Les ictères néonataux, première manifestation d'une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire enzymopénique

Le diagnostic n'en a été fait, jusqu'ici, qu'à posteriori. L'épisode ictérique, néonatal, est sans gravité. On le retrouve dans un des trois cas observés par ZINKHAM [308] (ictère le premier jour), un cas de NEWTON [194], un de WALLER [166] et deux observations de SHAHIDI [251] : dans l'une, l'ictère débuta le premier jour et dura trois semaines, l'hémoglobine qui était à 130 g o/oo à la naissance, chuta à 85 g, il existait une hépatosplénomégalie ; la guérison se fit sans traitement.

Ictères néonataux d'origine non médicamenteuse

Dès 1956, PANIZON nota la fréquence d'ictères graves, néonataux, dans certaines familles sardes où l'on retrouvait des cas de favisme. Il en a rapporté, jusqu'ici, 19 cas avec mise en évidence du déficit enzymatique, soit chez le nouveau-né, soit dans sa famille [198 -

199 - 200]. Dans la région de Sardaigne qu'il étudie (SASSARI), le nombre de ces cas dépasse celui des ictères graves par iso-immunisation fœto-maternelle ou prématurité. Ces ictères semblent dûs à la fragilisation des cellules hépatiques, résultant de leur déficit en G. 6P.D. Les processus de glycuco-conjugaison, déjà déficients chez tous les nouveau-nés, le sont encore plus ici et les conséquences de l'hémolyse physiologique sont, de ce fait, mal compensées: la bilirubine non conjuguée s'accumule, pouvant provoquer un ictère nucléaire; les produits de dégradation des hématies détruisent les cellules hépatiques, pouvant provoquer un ictère grave. Ces complications seront encore plus à redouter si une hémolyse, d'origine médicamenteuse, provoquée par le déficit des hématies en G.6P.D., vient se surajouter à l'hémolyse physiologique. Dans les cas qu'il a étudiés, PANIZON élimine une telle hémolyse. Il n'a retrouvé que dans trois cas sur dix-neuf, une prise de médicament par la nourrice (Gantrisine) ou la mère (vitamine K₂), mais ces médicaments n'étaient pas responsables de l'ictère, car il n'existait pas d'anémie chez ces nouveau-nés. Par contre, il pense que d'autres facteurs doivent jouer, en plus du déficit enzymatique:

un facteur familial indiscutable: dans les neuf familles qu'il a d'abord étudiées, il notait, dans une, quatre cas et dans trois, deux cas d'ictères graves;

l'existence de grossesses pathologiques, d'accouchements difficiles et de troubles du complexe prothrombinique;

la prématurité.

D'après PANIZON, ces facteurs ne sont toxiques que du fait de la fragilisation des cellules hépatiques et sanguines, par le déficit enzymatique. Bien que le déficit enzymatique soit très fréquent dans les régions qu'il étudie (12 %), il rejette toute possibilité de coïncidence et propose la recherche systématique du déficit enzymatique dans le sang du cordon de tous les nouveau-nés, dans les régions atteintes.

L'importance pathogénique du déficit enzymatique ressort aussi des études de SEGNI [245], de de TONI [281] et GABURRO [100] en Italie, de DOXIADIS en Grèce et de SMITH et WEATHERWALL à Singapour.

Sur 21 365 naissances à terme, survenues en 40 mois à Athènes, 92 se compliquèrent d'ictère grave, exigeant une exsanguino-transfusion. Un tiers environ (34 cas) ne répondait à aucune étiologie connue. Dix-sept purent être étudiés par DOXIADIS, qui mit en évidence, chez quatorze d'entre eux, le déficit enzymatique (alors que l'incidence de celui-ci en Grèce n'est que de 2 %). Parmi ces 14 ictères graves, 5 étaient peut-être la conséquence d'une hémolyse médicamenteuse, survenue du fait du déficit en G.6P.D. (vitamine

K₂, naphthaline), mais pour les 9 autres, aucune cause exogène ne put être retrouvée. DOXIADIS a, d'autre part, retrouvé le déficit enzymatique avec une grande fréquence, dans des familles ayant perdu un enfant d'ictère nucléaire, ainsi que parmi des enfants hospitalisés en hôpital psychiatrique pour des séquelles d'ictère nucléaire.

A Singapour, on a constaté le même phénomène. La majorité des ictères graves néonataux et des ictères nucléaires restaient inexpliqués, jusqu'à la découverte du déficit enzymatique.

Singapour est une ville où coexistent de nombreuses races : malaise, chinoise, indoue, juive... Les Malais ne sont presque jamais de groupe Rh + et ne font donc que très rarement des ictères par iso-immunisation fœto-maternelle ; le déficit enzymatique est aussi relativement rare chez eux, ce qui donne plus de valeur à sa constatation fréquente dans les cas d'ictères graves ou d'ictères nucléaires (WEATHERWALL) [292]. Le déficit enzymatique existe chez 2,5 % des Chinois et 5 % des Indous, mais la majorité des cas d'ictères graves intéresse des nouveau-nés Chinois. Ce fait, déjà noté en 1957 par WONG HOCK BOON [297] serait pour SMITH [255] en faveur de l'intervention d'un facteur exogène (coutume religieuse?) agissant grâce au déficit en G.6P.D. SMITH, comme PANIZON, estime que ce facteur exogène n'agit pas sur les hématies enzymopéniques, mais sur les cellules hépatiques enzymopéniques, car la mort se produit le plus souvent alors que l'hémolyse est minime. Ce facteur exogène n'est actif qu'en cas de déficit enzymatique : SMITH rapporte le cas de deux faux jumeaux, nés et élevés dans les mêmes conditions ; un seul était porteur du déficit enzymatique, il fit un ictère nucléaire alors que l'autre jumeau ne fit qu'un ictère minime.

Si l'accord n'est pas fait sur l'intervention de facteurs exogènes, tous les auteurs sont unanimes pour souligner l'existence d'un facteur familial [82 - 100 - 198 - 255 - 292].

Conclusion : Il est encore impossible de savoir l'importance exacte du déficit en G.6P.D. dans la pathogénie des ictères néonataux et des ictères nucléaires. Il faut se garder d'établir immédiatement un rapport de cause à effet entre le déficit et l'ictère que l'on constate ; le diagnostic d'ictère par déficit en G.6P.D. ne peut être qu'un diagnostic d'élimination. Le caractère familial de ces ictères signe, peut-être, d'autres anomalies que nous ne connaissons pas et qui ont, peut-être, plus d'importance que le déficit enzymatique. Cette pathogénie n'intervient pas en France, du fait de la rareté du déficit en G.6P.D., mais nous sommes amenés à traiter des malades originaires des pays, où la tare est très répandue. C'est ainsi qu'un cas d'ictère nucléaire, avec déficit en G.6P.D. chez un nourrisson Sarde, a pu être observé, à Strasbourg, dans le service du Professeur SACREZ

(communication personnelle). Le Professeur Rossi (communication personnelle) nous a signalé avoir observé un cas d'hyperbilirubinémie indirecte très importante, chez un nourrisson porteur d'une glycogénose hépatique, avec déficit en glucose 6 phosphatase, mais il n'a pas dosé chez lui la G.6P.D.

Cette observation du Professeur Rossi est excessivement intéressante, car AUERBACH [16] vient de décrire un cas de glycogénose hépatique avec déficit associé de glucose 6 phosphatase et de G.6P.D. Elle nous prouve que ce nouveau chapitre étiologique des ictères graves néonataux et des ictères nucléaires mérite d'être approfondi et risque de prendre une ampleur considérable dans l'avenir.

CHAPITRE V

Les anémies congénitales non sphérocytaires avec déficit en G. 6P. D.

Le problème diagnostique que pose un cas d'anémie congénitale est, le plus souvent, rapidement tranché avec l'aide du laboratoire. Il s'agit d'une maladie de Minkowski-Chauffard ou d'une hémoglobino-
binose, plus rarement d'une elliptocytose ou d'une hémoglobinurie
paroxystique a frigore. S'il n'en est pas ainsi, le problème devient
beaucoup plus difficile et, finalement, on aboutit au diagnostic « d'a-
némie hémolytique congénitale non sphérocytaire » qui cache en fait
notre ignorance. Il s'agit là d'un diagnostic d'attente, car sous ce
nom ont été publiés des cas manifestement très différents. Dacie
estime que les cas publiés [28 - 35 - 66 - 93 - 140 - 155 - 156 -
236 - 244 - 248 - 282] ne représentent qu'une faible partie de ceux
rencontrés en clinique. Les hématologistes se sont efforcés de trou-
ver sur les lames de sang, des signes traduisant l'anomalie globulaire.
Ils ont été ainsi amenés à insister sur l'absence des sphérocytes (qui,
en fait, n'est pas toujours absolue) et sur des aspects que l'on ren-
contre assez facilement dans une anémie hémolytique : modifications
de la taille et de la forme (macrocytose, elliptocytose, poikilocytose,
cellules cibles) inclusions (granulations basophiles, corps de Heinz).

Le plus souvent, ces aspects ne se rencontrent que dans un petit
nombre de cellules et surtout après splénectomie. La suppression de
l'émonctoire physiologique que constitue la rate, laisse circuler dans
le sang des cellules âgées qui ont un aspect inhabituel, préhémoly-
tique. Les autres examens de laboratoire n'apportent que des rensei-
gnements négatifs. La résistance globulaire aux solutions hypoto-
niques est normale, ce qui élimine le diagnostic de Minkowski-
Chauffard. Les recherches immunologiques sont négatives. L'hémo-
globine est normale. Les hématies ont pourtant une durée de vie rac-
courcie, les études au Cr^{51} le démontrent sans l'expliquer.

DACIE, en 1954 [249], à l'occasion de cas personnels, a différencié deux types d'anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire, qu'il a appelés type I et type II, en étudiant :

— les modifications de forme, de contenu cathionique et de résistance aux solutions hypotoniques, des hématies, après incubation à 37° pendant 24 heures. L'étude des modifications de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques est la plus facile à réaliser. La résistance globulaire est normale avant incubation dans les types I et II, ce qui les oppose à la sphérocytose congénitale. Après incubation, elle est de 3 à 5,5 o/oo pour les anémies du type I comme pour le sang normal, de 4 à 8 o/oo pour celles du type II et de 5 à 8 o/oo pour la sphérocytose congénitale ;

— l'autohémolyse à 37°, pendant 48 heures, du sang défibriné prélevé aseptiquement. Le taux d'hémolyse est faible, 0,4 à 4,5 % pour les anémies du type I comme pour le sang normal. Il est 10 à 20 fois plus important pour le type II et 5 à 10 fois pour la sphérocytose congénitale. On peut sensibiliser l'épreuve en la réalisant avec du sang enrichi en glucose : le taux d'hémolyse diminue beaucoup pour le sang normal, un peu moins pour les anémies du type I et ne varie pas pour celles du type II ; pour la sphérocytose congénitale, le taux d'hémolyse est très diminué et se rapproche de la normale.

Cela traduit un trouble grave du métabolisme glucidique dans le type II, beaucoup plus modéré dans le type I. Cliniquement, il est impossible de différencier les deux types ; par contre l'aspect des hémogrammes est différent : dans le type I, les macrocytes ont des aspects variables alors qu'ils sont arrondis dans le type II ; la réticulocytose est bien plus importante dans le type II...

Cette classification de DACIE n'a pas une valeur considérable, mais elle a permis de souligner l'importance, dans ces anémies, d'un trouble du métabolisme glucidique qui a été confirmé par d'autres travaux.

En 1955, MOTULSKY [189 - 190 - 191] étudiant l'intégration cellulaire du P^{32} , démontra que si la glycolyse se faisait à un taux normal dans ces anémies, il existait pourtant dans certains cas, un trouble de la phosphorylation avec augmentation du 2-3 diphosphoglycérate.

En 1957, PRANKERD trouva, dans ses cas, des résultats opposés à ceux de MOTULSKY [210].

En 1958, dans quatre cas de type II, De GRUCHY [120 - 121] trouva une diminution de l'ATP comme PRANKERD et une augmentation du 2-3 diphosphoglycérate comme MOTULSKY.

L'erreur congénitale du métabolisme glucidique que DACIE soupçonnait, ou peut-être seulement une de ces erreurs métaboliques a été isolée dans quelques cas : il s'agit d'un déficit en G.6P.D.

NEWTON et BASS [194] en publièrent, en 1958, le premier cas : un garçon, âgé de 4 ans, d'origine italienne, leur fut adressé pour un épisode hémolytique aigu avec hémoglobinurie, provoquée par la prise de gantrisine. Il était porteur du déficit enzymatique : deux semaines après l'épisode hémolytique, le GSH passait de 45 mg avant incubation avec l'APH, à 11 mg après. Le test de stabilité était aussi positif en remplaçant l'APH par de la gantrisine. Ce garçon n'aurait été qu'un exemple banal de sujet « enzymopénique », facilement expliqué par son origine raciale, s'il n'avait été porteur d'une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire. Celle-ci s'était manifestée, dès la naissance, par un ictère puis par une anémie chronique avec réticulocytose et poussée subaiguë d'hémolyse. En dehors de tout épisode d'hémolyse médicamenteuse, la demi-vie de ses hématies était de 5 jours.

SHAHIDI et DIAMOND [251], en 1959, rapportèrent l'observation de deux frères américains, d'origine italienne par leur mère, polonaise par leur père.

Le plus jeune, vu à 5 ans $1/2$, avait eu un ictère 24 heures après sa naissance. A 5 jours son hémoglobine était à 130 g o/oo et son hémogramme à 3 300 000. L'ictère dura trois semaines, l'hémoglobine atteignit 85 g et une hépato-splénomégalie fut notée. Pendant ses deux premières années, l'enfant resta anémique avec une hémoglobine oscillant entre 90 et 100 g et eut un développement normal. A 2 ans $1/2$ et à 5 ans, il présenta un accès hémolytique aigu, nécessitant une transfusion. L'examen à 5 ans $1/2$, en période de bonne santé apparente, montrait : développement normal, subictère, splénomégalie débordant de trois travers de doigt les fausses côtes, foie normal, 2 980 000 hématies, 90 g o/oo d'hémoglobine, 4 % de réticulocytes, 1,2 mg % de bilirubine non conjuguée ; résistance globulaire normale ; radios du crâne normales ; GSH : 30 mg avant incubation, 2,7 après incubation ; G.6P.D. : 1,2 unité (chiffre normal 18 unités).

Le plus âgé, vu à 7 ans, avait lui aussi fait un ictère néonatal durant dix jours, mais plus bénin. Le premier épisode hémolytique était survenu à 6 ans, à l'occasion d'une angine traitée par de la pénicilline intramusculaire. Il avait fait après l'injection un collapsus avec une chute brutale des hématies à 920.000, une hémoglobine à 28 g p. 1000 et une hémoglobinurie. Tout était rentré dans l'ordre après transfusion. L'examen, un an plus tard, montrait : développement staturopondéral satisfaisant, subictère conjonctival, splénomégalie débordant

de deux travers de doigt les fausses côtes; 3.780.000 hématies; 4,8 % de réticulocytes; biliburine 1,5 mg %; radios osseuses normales; GSH: 22 mg avant incubation, 0 après; G. 6P.D. 0,2 unité.

L'étude de la famille montrait: une tante maternelle opérée d'une lithiase (pigmentaire?); une mère « intermédiaire » du point de vue enzymatique mais ayant un examen hématologique normal; un père normal.

Les trois cas publiés par ZINKHAM [308], concernent des enfants blancs qui présentaient une anémie hémolytique assez modérée pour ne pas avoir entraîné la splénectomie. Il n'y avait pas d'hépto-splénomégalie et on notait une réticulocytose chronique, variant entre 6 et 10 %.

Le premier des trois malades fut observé à l'occasion d'un épisode hémolytique aigu avec hémoglobinurie, d'origine médicamenteuse (phénacétine prescrite dans un traitement de rhinopharyngite). Dans ses antécédents, on notait un ictère à la 24^e heure de la vie, une anémie chronique depuis l'âge de deux ans (hémoglobine oscillant entre 100 et 120 g p. 1000, réticulocytes 6 à 10 %).

Son frère ne présenta pas d'ictère néonatal, mais fit deux crises d'hémolyse à l'occasion de rhinopharyngite.

L'étude de leur famille montrait une anémie hémolytique chez le grand-père maternel et chez deux des frères de celui-ci. Les deux enfants et le grand-père maternel présentaient un déficit marqué en G. 6P.D., la mère un déficit modéré. Les deux grands oncles maternels ne purent être étudiés du point de vue enzymatique.

Le troisième cas concernait un garçon blanc, de 10 ans présentant une anémie hémolytique depuis l'âge de deux mois, avec cinq poussées aiguës dont deux nécessitèrent des transfusions. Sa famille américaine avait des ancêtres anglais, français et allemands et comptait un oncle maternel qui avait présenté un ictère hémolytique. Ce garçon avait un déficit important en enzyme, sa mère un déficit modéré.

LÖHR et WALLER [166 - 291], en 1958, trouvèrent un déficit en G. 6P.D. chez un Iranien de 30 ans, ayant une anémie hémolytique chronique avec poussées aiguës survenant à la fatigue. Sept membres de sa famille du côté maternel, dont cinq femmes, présentaient les mêmes symptômes...

LISKER [165], en 1960, a mis en évidence le déficit enzymatique chez un juif séfardi, de 15 ans, ayant une anémie hémolytique chronique avec des paroxysmes hémoglobinuriques.

ZINKHAM estime qu'on a isolé, ainsi, une nouvelle maladie hémolytique congénitale, ayant une évolution subaiguë, ne nécessitant pas la splénectomie. Elle se caractérise par son caractère non sphérocy-

taire, sa résistance globulaire normale, et un déficit en G. 6P.D. presque complet. L'importance de ce déficit et sa survenue chez des individus à peau blanche différencient pour ZINKHAM cette maladie hémolytique de l'anémie aiguë, frappant les Noirs Américains enzymopéniques qui ont, en dehors de toute agression médicamenteuse, une durée de vie des hématies normales.

En fait, des études plus récentes diminuent cette opposition. On sait que le déficit enzymatique est, en moyenne, bien plus important dans les hématies des sujets enzymopéniques de race blanche (Sardes, Juifs orientaux) que chez ceux de race noire [178]. On vient d'autre part de démontrer que la durée de vie des hématies était diminuée chez tous les sujets enzymopéniques, en dehors de poussée hémolytique aiguë médicamenteuse. Comme nous le verrons au chapitre « étiologie », la synthèse de la G. 6P.D. est contrôlée par un gène unique. On peut donc supposer qu'il a subi plusieurs mutations: la plus répandue provoque une fragilisation des hématies avec durée de vie à peine raccourcie, une autre plus rare est à l'origine d'anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire.

Mais une objection peut toujours être faite, lorsque les cas publiés appartiennent à des races où le déficit enzymatique est répandu: ne s'agit-il pas d'une coïncidence? Rappelons que les cas de NEWTON et ceux de SHAHIDI concernent des sujets à ascendance italienne, ceux de LÖHR des sujets iraniens et celui de LISKER un juif séfardi.

Il est donc difficile de conclure, mais il faut cependant reconnaître que la classification des anémies hémolytiques congénitales non sphérocytaires, proposée par ZINKHAM, est très intéressante. Il distingue trois types: avec déficit en G. 6P.D., sans déficit, avec augmentation du taux de l'enzyme (celle-ci n'étant pas due à la réticulocytose).

Des recherches ultérieures sont nécessaires pour trancher, mais le dosage de la G. 6P.D. doit faire partie du bilan de toute anémie hémolytique congénitale d'étiologie inconnue.

Dans certains cas, l'étude du test de stabilité du GSH n'est pas suffisante et il faut la compléter par le dosage direct de l'enzyme. OORT [195] vient en effet de publier des cas d'anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire, avec taux minime de GSH avant et après incubation avec l'A.P.H., sans déficit en G. 6P.D. ou en GSH réductase. Il s'agirait d'une nouvelle maladie où on retrouve l'importance du GSH, dans le maintien de l'intégrité cellulaire.

CHAPITRE VI

Etiologie

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DES PORTEURS DE LA TARE

Ce problème intéresse non seulement les généticiens mais aussi les ethnologues ; aussi de très nombreuses études ont été faites dans le monde entier. Le diagnostic des porteurs de la tare peut se faire en recherchant soit ses manifestations cliniques (l'hémolyse provoquée par les antipaludéens et le favisme), soit ses manifestations biochimiques (le déficit en G. 6P.D. et l'instabilité du GSH). La première étude systématique fut faite en 1957 par CHILDS [55] qui a étudié un grand nombre d'Américains, échantillon représentatif de la population des Etats-Unis, avec le test de stabilité du GSH. La tare existe dans la population noire chez 16,6 % des hommes et 6,5 % des femmes ; dans la population blanche, elle n'existe que chez 1 à 2 o/oo des sujets.

Deux autres études systématiques furent ensuite faites :

En Israël, SZEINBERG [266 - 272 - 273] a retrouvé l'anomalie chez les Juifs orientaux de rite séfardi alors que les Juifs européens de rite aschkenazi sont épargnés. 25 % des Juifs originaires d'Irak, 60 % de ceux originaires du Kurdistan ont un GSH instable. Les ethnologues ont démontré qu'ils étaient les descendants des Juifs déportés de Babylone par Nabuchodonosor en 586 avant J.C. [275]. La tare est aussi retrouvée chez 20 % de ceux originaires de Perse, 8 % de Turquie, 6 % du Yemen, 2 % d'Afrique du Nord. On n'a retrouvé qu'un cas de Juif de rite aschkenazi, enzymopénique (originaire de Pologne et diagnostiqué à l'occasion d'une crise de favisme) [215].

En Italie, la tare est retrouvée dans les régions où sévit le favisme, en Sardaigne essentiellement où d'après CARCASSI 24 % des hommes sont porteurs de la tare (voir le chapitre consacré au favisme) [47].

Puis des études furent faites dans le monde entier :

En Afrique existe un foyer très important autour de l'équateur, au Congo Belge (20 % des hommes Bantous étudiés par SONNET et MOTULSKY) [188, 257, 258], au Niger (10 % des habitants d'après GILLES) [104, 105], dans la région du lac Victoria (15 à 28 % d'après ALLISON [4, 5]. On y signale de nombreux cas d'anémies provoquées par les antipaludéens ou les sulfones (employés contre la lèpre). Les Noirs Américains sont les descendants d'esclaves originaires de ces régions.

En Asie, on a retrouvé le déficit chez 8,5 % des musulmans d'Iran (WALKER) [289], 2 % des Chinois [27, 188, 255], 12,7 % des Philippins. Au Japon, le déficit n'a pas été retrouvé [188].

En Océanie, KIDSON [144] a trouvé le déficit chez 10 % des habitants de la Nouvelle Bretagne et chez 0,5 % de ceux de la Nouvelle Guinée.

En Amérique, on l'a trouvé, en dehors des Noirs Américains, dans certaines tribus indiennes ; on ne l'a pas retrouvé chez les Esquimaux [188].

En Europe, on l'a trouvé, en dehors des Italiens, chez 2 % des Grecs [301].

Beaucoup de pays n'ont pas fait l'objet d'études systématiques, mais on a publié des cas sporadiques d'enzymopénie diagnostiqués à l'occasion d'anémies hémolytiques dans les pays suivants : Chine, Java, Indes, Costa-Rica [20, 188]. On a signalé d'autre part des cas de favisme ou d'anémies hémolytiques provoquées par des médicaments, sans étude enzymatique, dans les pays suivants : Portugal, Espagne, Turquie, Egypte, Liban et Mauritanie [188].

En France, on n'en a pas signalé, mais il doit en exister en Corse puisqu'on y a signalé des cas de favisme (BADETTI) [196].

Le caractère nettement racial du déficit en G. 6P. D. signe la transmission héréditaire ; nous allons étudier son mode de transmission génétique.

MODE DE TRANSMISSION DE LA TARE

Lorsqu'on recherche le mode de transmission génétique d'une tare, il est nécessaire de connaître, tout d'abord, sa fréquence dans la population et d'étudier ensuite les arbres généalogiques des su-

jets atteints. C'est ce que fit CHILDS [55] en 1957, pour la population noire américaine avec le test de stabilité du GSH; ce fut la première étude génétique complète de la transmission du déficit en G. 6P. D. et elle permit à CHILDS d'élucider son mode héréditaire. Ses travaux furent confirmés par la suite.

Etude de la transmission de la tare dans la population noire des Etats-Unis (Childs, 1957)

FRÉQUENCE DU GÈNE

Etudiant avec le test de stabilité du GSH, 184 femmes et 144 hommes de race noire, en bonne santé, choisis au hasard, CHILDS a trouvé les résultats suivants :

Test de stabilité du GSH	Femmes		Hommes	
	Nombre	%	Nombre	%
Sujets normaux	172	93,48	120	83,54
Sujets {Intermédiaires sensibles {Hypersensibles	9	4,89	3	2,08
	3	1,63	21	14,58
Totaux	184		144	

CHILDS en déduisit que la tare était très répandue dans cette population, que les hommes étaient presque trois fois plus atteints que les femmes et que leur atteinte était plus sévère.

ETUDE DES ARBRES GÉNÉALOGIQUES DES PORTEURS DE LA TARE

Ayant ainsi sélectionné des sujets « sensibles », il étudia ensuite leurs familles (à l'exception de celles des hommes trouvés « intermédiaires »); nous donnons (fig. 6) la reproduction de leurs arbres généalogiques.

La transmission dans trois générations successives suggère la dominance.

Elle est réalisée dans les familles 1, 11, 12, 15.

S'agit-il de dominance autosomique avec limitation d'expression selon le sexe?

Le sexe a nettement une influence :

— L'étude de la population noire Américaine a montré une atteinte plus fréquente et plus grave des hommes qui ont la forme majeure de la tare (état hypersensible) alors que les femmes ont plutôt la forme mineure (état intermédiaire).

— L'étude de la répartition des phénotypes dans les familles étudiées par CHILDS le confirme comme le montre le tableau ci-dessous :

	Connus				Inconnus	Total
	Hypers.	Interm.	Norm.	Total		
Pères	5	0	14	19	13	32
Mères	8	12	8	28	4	32
Filles	10	17	37	64	5	69
Fils	26	0	18	44	9	53
Total	49	29	77	155	31	186

Hypers. : hypersensible — Interm. : intermédiaire — Norm. : normal.

A la génération des enfants, si l'on compte ensemble les sujets « hypersensibles » et les sujets « intermédiaires », on trouve que dans les familles atteintes, la moitié à peu près des descendants sont touchés, ce qui cadre avec une hérédité dominante. Mais on trouve deux fois plus de filles intermédiaires que d'hypersensibles et plus de garçons hypersensibles que l'ensemble des filles intermédiaires et hypersensibles.

A la génération des parents, la répartition est différente, 1/4 des pères sont affectés alors que la moitié des mères sont atteintes d'une façon ou d'une autre.

Cette distribution suivant le sexe, différente à la génération des parents et des enfants, ne cadre pas avec une transmission autosomique limitée par le sexe.

Dominance liée au chromosome X.

C'est ce mode de transmission qui cadre le mieux avec la plupart des arbres généalogiques rapportés. Nous désignerons le gène normal récessif par x et le gène mutant dominant par X , conformément aux règles adoptées en génétique.

L'homme porteur de la tare ne peut être qu'hémizygote Xy , mais le trait s'exprime complètement chez lui car le gène mutant n'est pas neutralisé par le gène normal. L'homme est donc « hypersensible ».

La femme porteuse de la tare peut être :

homozygote XX : le trait est à la dose double et s'exprime complètement ; la femme est « hypersensible ».

hétérozygote Xx : le trait est atténué dans son expression par le gène normal. La femme est soit « intermédiaire », soit normale, suivant que l'expression du gène est atténuée ou rendue nulle. On ne peut démontrer l'existence du trait, lorsque son expression est nulle, que si la femme qui en est porteuse, a des enfants atteints (et est donc conductrice).

Ayant classé les familles qu'il a étudiées suivant les phénotypes des ascendants, CHILDS a calculé combien d'enfants de chaque phénotype résultaient de ces unions.

Type de mariage		Nombre de familles	Fils		Filles		
Mère	Père		Hypers.	Norm.	Hypers.	Int.	Norm.
Interm.	Norm.	5	0	6	0	2	12
Norm.	-	5	3	3	0	2	2
Interm.	Inc.	4	4	0	1	1	5
Hypers.	Norm.	3	3	0	0	2	1
-	Inc.	4	4	0	2	5	0
-	Hypers.	1	1	0	1	0	0
Norm.	-	2	1	1	1	0	1
Interm.	-	2	0	3	3	1	0

Interm. : intermédiaire — Norm. : normal

Hypers. : hypersensible — Inc. : inconnu.

Il a pu ainsi, d'une part, calculer le pourcentage des cas de transmission de la tare par voie maternelle ou paternelle et, d'autre part, comparer la répartition globale des enfants dans chaque fratrie avec celle que l'on s'attend à voir théoriquement. Dans les 26 familles étudiées, il n'a trouvé une transmission de la tare par voie paternelle que dans deux cas ; dans les 24 autres la mère était toujours atteinte. Le père n'était connu que dans 16 de ces 24 familles où la mère était atteinte et dans ces 16, la transmission s'est faite par voie maternelle dans 13, et par les deux parents dans 3.

Cette répartition est en faveur d'une hérédité liée au chromosome X, bien que théoriquement dans ces cas on ne voit jamais une transmission par voie paternelle. Les deux cas où on la rencontre ici s'ex-

pliquent si on admet que la mère, qui a un phénotype normal, est, en fait, conductrice (ce qui est très possible vu la fréquence de la tare dans la population étudiée).

Envisageons maintenant les différents couples possibles et comparons la répartition théorique des phénotypes des enfants qui en résultent avec celle trouvée par CHILDS.

$$a) Xy + xx \rightarrow Xx + Xx + xy + xy$$

Un père « hypersensible » marié à une femme normale a toutes ses filles « intermédiaires » (ou conductrices) et tous ses garçons normaux. Cela ne cadre pas du tout dans deux fratries étudiées, à moins d'admettre que la mère est conductrice.

$$\text{Famille 1: } Xy + xx \rightarrow \begin{matrix} XX \\ (II_3) \end{matrix} + \begin{matrix} xy \\ (III_8) \end{matrix} + \begin{matrix} Xx \\ (III_9) \end{matrix}$$

$$\text{Famille 4: } Xy + xx \rightarrow xx + Xy$$

$$b) Xx + xy \rightarrow Xx + Xy + xx + xy$$

Une femme « intermédiaire » mariée à un homme sain a la moitié de ses garçons « hypersensibles » et la moitié de ses filles « intermédiaires » (ou conductrices). Cela est exactement vérifié pour

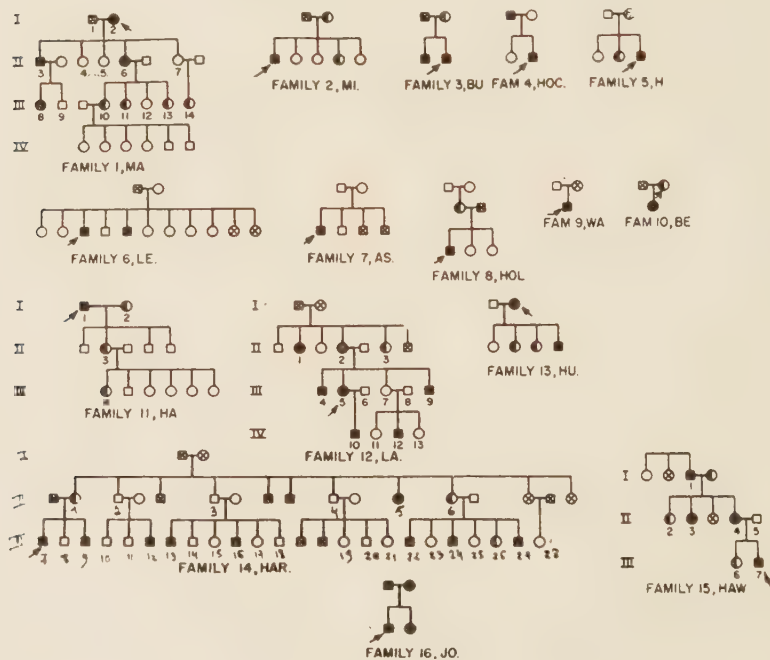


FIG. 6.

les garçons: 6 normaux et 6 « hypersensibles », mais ne l'est pas pour les filles (12 normales et 2 « intermédiaires »).

$$c) Xx + Xy \rightarrow XX + Xy + xX + xy$$

Une femme « intermédiaire » mariée à un homme « hypersensible » a la moitié de ses filles « hypersensibles », la moitié de ses filles « intermédiaires » (ou conductrices), la moitié de ses garçons « hypersensibles » et la moitié de ses garçons sains.

Cela cadre avec les familles 11 (première génération) et 15 (première génération), bien que l'on n'ait pas la répartition idéale (1).

$$d) XX + xy \rightarrow Xx + Xy + Xx + Xy$$

Une femme « hypersensible » mariée à un homme sain a toutes ses filles « intermédiaires » (ou conductrices) et tous ses garçons « hypersensibles ». Ceci est vérifié pour les garçons dans les familles 5, 12 (mères II₂ et III₅) et 15 (mère II₄).

$$e) XX + Xy \rightarrow XX + Xy + XX + Xy$$

Le mariage de deux sujets « hypersensibles » ne donne que des enfants « hypersensibles ». Cela cadre avec la famille 16. On peut aussi noter: que dans les 8 familles où la mère est « hypersensible », quel que soit le phénotype du père, tous les fils au nombre de 8 sont « hypersensibles »: familles 1 (mères I₂ et II₆), 5, 12 (mères II₂ et III₅), 13, 15 (mère II₄) et 16; qu'on n'a jamais trouvé une mère hétérozygote mariée à un homme normal, qui a donné naissance à une fille homozygote.

Quelques familles paraissent ne pas obéir à ce mode de transmission, mais il suffit d'admettre que certaines mères ou filles, normales d'après le test de Beutler, sont, en fait, porteuses du trait mais avec une expression nulle, pour que la plupart de ces familles concordent avec ce type d'hérédité. C'est le cas de: famille 1 (épouse de II₃, II₇, III₁₂), 5 (première fille), 6 (la mère), 7 (la mère), 8 (la mère), 12 (deuxième fille et III₇), 13 (première fille), 14 (épouse de II₂ et épouse de III₃). Il reste cependant les familles suivantes:

Famille 1 1^{re} et 2^e génération

$$? + XX \rightarrow Xy + xx \text{ (ou } Xx) + xx \text{ (ou } Xx) + XX + xx \text{ (ou } Xx)$$

(I₁) (I₂) (II₃) II₄ II₅ II₆ II₇

Puisqu'il y a une fille homozygote XX, il faut admettre que le père inconnu était Xy, mais dans ce cas toutes les filles devraient être homozygotes. On en déduit, ou que le père de II₆ n'est pas

(1) Les chiffres donnés dans le tableau (3 filles « hypersensibles » et 1 « intermédiaire ») ne concordent pas exactement avec les arbres généalogiques où l'on constate 2 filles « hypersensibles » et 2 filles « intermédiaires ».

celui des autres enfants ou que l'expression peut être diminuée dans le sexe féminin même chez les homozygotes.

Le problème est exactement le même dans la famille 12 pour expliquer la fille III₅ qui est homozygote.

Il est habituel en génétique humaine de ne pas pouvoir expliquer tous les arbres généalogiques de familles tarées; il faut reconnaître qu'ici, il n'y a que très peu de fratries ne concordant pas avec le mode héréditaire soupçonné et que l'on a, par contre, tout un faisceau d'arguments en sa faveur. On peut donc conclure avec CHILDS que le trait « déficit en G. 6P.D. » est transmis par une hérédité liée au sexe avec dominance incomplète de l'allèle X sur l'allèle normal x, ce qui la rapproche beaucoup d'une hérédité de type intermédiaire. L'expressivité est surtout diminuée dans le sexe féminin, du fait que si chez les hommes hémizygotes Xy l'allèle normal n'existe pas, chez les femmes hétérozygotes l'allèle x vient diminuer l'expression de X. Il s'agit là d'un mode de transmission tout à fait exceptionnel; on ne connaît que deux ou trois exemples de tares liées au chromosome X qui se transmettent en dominance.

Autres études génétiques

La théorie de CHILDS a été confirmée par d'autres auteurs qui ont recherché les porteurs du trait par le test de stabilité du GSH: SZEINBERG en Israël [266 - 272 - 273 - 274 - 275], CARCASSI en Sardaigne [47], ou en utilisant le dosage direct de l'enzyme: GROSS et MARKS aux U.S.A. [119 - 117], ou en provoquant l'hémolyse par la Primaquine chez les sujets « sensibles »: ALVING aux U.S.A. [10].

SZEINBERG et ALVING ont cependant trouvé une atteinte plus fréquente des femmes mais qui reste inférieure à celle que l'on s'attend à avoir statistiquement, ce qui concorde avec l'expressivité diminuée dans le sexe féminin.

Elle a aussi été confirmée par ADAMS [1] en Israël et SINISCALCO [253] en Sardaigne: ils ont démontré une liaison entre le gène responsable du déficit enzymatique et celui responsable du daltonisme, dont on connaît le caractère lié au sexe.

COMMENT LA TARE

A-T-ELLE PU SE TRANSMETTRE JUSQU'A NOS JOURS?

De nombreuses mutations se produisent fortuitement à chaque génération humaine. La plupart restent exceptionnelles, soit qu'elles soient léthales pour l'embryon ou qu'elles soient récessives et demandent pour se transmettre la rencontre, improbable vue la ra-

reté de la mutation, de deux sujets hétérozygotes. Une mutation a le plus souvent des côtés bénéfiques et des côtés maléfiques. Pour qu'une mutation se transmette à un grand nombre d'individus, il faut ou que son taux de mutation soit très élevé ou que les avantages qu'elle procure soient supérieurs aux inconvénients, permettant aux individus mutants d'arriver à l'âge de procréation. C'est le milieu environnant qui joue le rôle d'agent sélecteur, d'une manière différente suivant les époques : à la préhistoire cette sélection a été faite par le climat et les bêtes féroces. Seules ont pu survivre et se multiplier certaines races dont le génotype les rendait résistantes à ces agents meurtriers. Plus tard, les hommes ont commencé à vivre en communauté, ce qui a permis la propagation des maladies infectieuses et ce sont elles qui ont fait la sélection. Parmi les maladies infectieuses, mortelles, assez répandues pour jouer ce rôle, il faut distinguer celles qui survenaient assez régulièrement en grandes pandémies (la peste, la variole) et celles qui existaient à l'état endémique (le paludisme). D'après MOTULSKY [188], la peste a tué au ^{xiv}^e siècle la totalité des habitants de Chypre, 90 % de ceux de Silésie, 75 % de ceux d'Avignon, et la variole au ^{xvi}^e siècle 50 % des Aztèques (c'est là la principale raison de leur défaite par Cortez), etc...

On conçoit que de telles épidémies frappent surtout au hasard. Mais il existe cependant certains génotypes qui rendent leurs porteurs plus résistants et leur permettent de survivre et de se multiplier. A la génération suivante, ce génotype sera beaucoup plus répandu et la population résistera mieux à la pandémie suivante. Mais ce phénomène est beaucoup plus vrai pour les maladies mortelles endémiques comme le *paludisme*. Les enfants qui naissent sont protégés par l'immunité qui leur est transmise par leur mère pendant les six premiers mois. Ils s'immunisent peu à peu, mais ce n'est qu'à partir de l'âge de deux ans que cette immunité active va les protéger contre les formes mortelles du paludisme. Entre six mois et deux ans, les nourrissons sont très vulnérables et, si l'on considère que de nos jours deux millions de nourrissons meurent encore de paludisme chaque année et que cela dure depuis plusieurs milliers d'années, on conçoit que ceux qui ont un génotype qui les protège, même si cette protection n'est que minime, ont plus de chance de survivre que ceux qui n'ont pas ce génotype. Depuis que le paludisme existe en Afrique, sur les côtes méditerranéennes et en Orient, il s'est fait insidieusement une sélection de sujets plus résistants qui, protégés pendant leur premier âge contre les formes mortelles, ont eu le temps de s'immuniser et de procréer. Bien qu'il soit d'existence plus récente, le *plasmodium falciparum* (agent de la tierce maligne) joue un rôle sélectif beaucoup plus important



Distribution of *Falciparum Malaria* (see Boyd, 1949).



Distribution of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency.
d'après MOTULSKY [188]

que le plasmodium vivax (agent de la tierce bénigne) ou le plasmodium malariae (agent de la fièvre quarte), car la tierce maligne est la forme la plus grave du paludisme.

Dans les régions impaludées, on trouve avec une plus grande fréquence que dans le reste du monde certaines mutations: hémoglobinoses (en particulier dépanocytose et thalassémie) et déficit en G. 6P.D. Il est vraisemblable qu'elles ont pu se développer parce qu'elles font partie des génotypes protecteurs contre le paludisme. Pour le démontrer, il faut prouver: que les porteurs de ces gènes vivent et ont eu des ascendants qui vivaient dans des régions très impaludées; que la mortalité par le paludisme est statistiquement moins forte, dans une population donnée, chez les sujets mutants que chez les sujets normaux; que cet effet bénéfique est contrebalancé, dans une certaine mesure, par les effets maléfiques du gène, car s'il n'en était pas ainsi, l'allèle mutant aurait complètement remplacé l'allèle normal dans la population.

Ce problème a d'abord été étudié pour *la dépranocytose*; on a pu démontrer que les porteurs du trait avaient pu se multiplier, du fait de leur résistance accrue au paludisme. Cette résistance doit être importante, car l'effet maléfique du gène est très grand: la forme homozygote est mortelle avant l'âge de la procréation, ce qui amène la mort du quart des enfants résultant du mariage de deux porteurs du trait hétérozygote (type de mariage très fréquent dans certaines régions où 40 % de la population est porteuse du trait). VANDEPITTE et DELAISSE [284], pour le démontrer, ont recherché dans une population noire africaine où le trait est répandu, le pourcentage d'enfants de moins de quatre ans ayant plus de mille plasmodium par ml de sang (il existe un rapport entre le degré d'infestation du sang et la gravité de l'atteinte). Ils en ont trouvé 24,4 % parmi les sujets n'ayant pas le trait et seulement la moitié, soit 13 %, parmi ceux porteurs du trait.

Il en est vraisemblablement de même pour *la thalassémie* dont la forme homozygote est aussi mortelle; CEPPELLINI et CARCASSI l'ont démontré en Sardaigne [188].

Pour le déficit en G. 6P.D., le problème est un peu différent: pour que la tare ait pu se transmettre à un grand nombre d'individus, il n'est pas nécessaire que l'effet protecteur de ce génotype soit aussi important que pour les traits drépanocytaire et thalassémique, car son effet maléfique est beaucoup moins léthal. Cet effet maléfique doit cependant être suffisant pour empêcher l'allèle mutant de remplacer complètement l'allèle normal. La fréquence des ictères graves néonataux dûs au déficit en G. 6P.D. est minime et, pour ce qui est de ses autres effets, le trait demande, pour se manifester cliniquement, l'action d'un facteur extérieur: médicaments (mais ceci

ne joue que depuis peu de temps) substances végétales (la fève n'est cultivée que dans une faible partie des zones impaludées. Il est certain qu'en Sardaigne le favisme a joué un rôle, mais la mortalité qu'il a entraînée a toujours été très inférieure à celle due au paludisme. Il se peut que d'autres végétaux aient eu un effet similaire en Afrique) maladies à virus (le déficit en G. 6P.D. potentialise leurs effets hémolytiques, mais cela ne joue guère statistiquement).

Si l'effet protecteur a moins d'importance, il devient plus difficile à démontrer. Etudiant des enfants de quatre à dix ans, MOTULSKY [188] n'a pas réussi à le démontrer, car à cet âge l'immunité active joue le rôle principal dans la résistance au paludisme. C'est pour éviter cette cause d'erreur qu'ALLISON [5] a étudié des enfants de moins de quatre ans: il a trouvé un pourcentage d'enfants ayant plus de mille parasites au mm³ moins important parmi ceux qui sont porteurs du déficit en G. 6P.D. MOTULSKY et VANDEPITTE [188] ont trouvé en Afrique un parallélisme évident entre l'importance de l'endémie palustre et la fréquence du trait. Ils ont étudié des tribus de races variées et n'ont trouvé une haute incidence du trait que chez les habitants des régions impaludées depuis longtemps. Dans ces tribus, le trait dépanocytaire est aussi très répandu, mais il n'y a pas de corrélation entre les deux traits. MOTULSKY et SINISCALO [188 - 253] sont arrivés aux mêmes conclusions en Sardaigne pour ce qui est du déficit en G. 6P.D. et du trait thalassémique. Ils ont trouvé une haute incidence de ces deux traits dans les villages côtiers qui sont impaludés et une faible incidence dans les villages de montagne où le paludisme n'a jamais existé. En Grèce, il en est de même. Ce pays est le seul où l'on rencontre dans la population les trois traits: thalassémique, drépanocytaire et déficit en G. 6P.D.

Il semble que l'on puisse expliquer le mécanisme par lequel le déficit en G. 6P.D. empêche le plasmodium de se multiplier chez les sujets porteurs du trait [188]. Le parasite utiliserait dans son métabolisme le glutathion et peut-être même l'enzyme du sang de son hôte; or les sujets ayant un déficit en G. 6P.D. ont un GSH diminué et ils en font la synthèse avec difficulté. Les différents plasmodium ne s'attaquent pas aux mêmes hématies: le plasmodium vivax s'attaque aux hématies âgées, le plasmodium falciparum aux hématies jeunes. Cela doit correspondre à des différences de leur métabolisme. Il est possible que ce soit parce que les cellules âgées contiennent moins de G. 6P.D. que le plasmodium falciparum ne s'y développe pas. On conçoit qu'il puisse en être de même pour les hématies ayant le déficit en G. 6P.D., hématies qui sont de toutes façons victimes d'un vieillissement précoce.

Il reste à expliquer pourquoi au cours des millénaires, il n'est pas apparu une race mutante de plasmodium qui se soit adaptée au sang des sujets enzymopéniques, à l'image de ce que l'on connaît pour certains microbes ou virus.

CONCLUSION

La tare a demandé plusieurs milliers d'années pour se répandre dans certains pays. Il est vraisemblable que plusieurs mutations se sont produites, à des moments différents, en Afrique, en Sardaigne et en Orient. La survenue de plusieurs mutations est prouvée par les différences quantitatives et peut-être qualitatives existant entre la G. 6P.D. des Noirs et des Blancs enzymopéniques (voir chapitre « Pathogénie »). Ces pays éloignés les uns des autres avaient un facteur commun : l'endémie paludéenne, et c'est lui qui a permis le développement de la tare. La mutation qui est à l'origine du trait s'est un jour produite par hasard, mais il s'est trouvé qu'elle entraînait une résistance au paludisme. Pendant deux millénaires au moins, le paludisme a entraîné le décès d'une grande partie des nourrissons de ces régions, mais a épargné en partie ceux qui étaient porteurs du trait. Il en est résulté dans certaines races, qui ont vécu en « isolats », tels les Juifs du Kurdistan, une incidence du trait atteignant 60 %.

Actuellement, il semble qu'avec la disparition du paludisme qu'entraîne l'emploi des antipaludéens et les progrès de l'hygiène, la progression de la tare soit stoppée. Son effet bénéfique (la protection relative contre le paludisme) a moins d'importance depuis que nous disposons d'armes puissantes contre ce fléau. Son effet maléfique au contraire augmente : les sujets porteurs du déficit qui étaient autrefois avantagés, sont maintenant désavantagés, puisque les antipaludéens de synthèse provoquent chez eux des anémies hémolytiques. On constate un phénomène identique pour le trait drépanocytaire : l'incidence du trait est bien moins élevée chez les Noirs Américains que dans les tribus d'Afrique dont leurs ancêtres sont originaires, alors que l'incidence du trait « déficit en G. 6P.D. » y est encore presque identique. L'effet maléfique du gène de la drépanocytose est en effet très supérieur à celui du déficit en G. 6P.D. ; aux Etats-Unis, le paludisme n'existe plus à l'état endémique depuis plusieurs siècles, ce qui a retiré tout avantage aux porteurs du trait et ce qui a amené assez rapidement une diminution de leur nombre. Pour le déficit en G. 6P.D., on peut prévoir qu'il faudra, pour assister au même phénomène, un nombre de siècles beaucoup plus élevé.

Il est vraisemblable que d'autres gènes mutants doivent leur persistance actuelle à la résistance qu'ils conféraient à leurs porteurs,

contre d'autres maladies que le paludisme. Il est facile de le soupçonner pour des gènes dont l'effet se traduit au niveau du sang, par la production de facteurs liés à la résistance aux infections : haptoglobine, transferrine (qui, en plus de son action dans le métabolisme du fer, inhibe le développement de certains microbes et virus). Il est par contre impossible de le démontrer pour des gènes dont nous ne connaissons que l'effet maléfique, qui n'a aucun rapport avec l'infection, gènes qui, le plus souvent, sont très peu répandus, ne permettant pas une étude comparable à celle qui a été faite pour les rapports entre paludisme et hémoglobinoses ou déficit en G. 6P.D.

Sur le plan génétique pur, l'étude de la transmission du déficit est aussi passionnante pour plusieurs raisons : le gène mutant est très répandu, ce qui permet d'étudier de nombreux arbres généalogiques comprenant plusieurs sujets atteints ; c'est un des rares exemples de gène lié au sexe, transmis en dominance ; il s'agit d'un gène qui intervient dans la formation d'une enzyme. Actuellement, on estime que tous les gènes agissent par l'intermédiaire d'enzymes : l'information génétique, transmise au cytoplasme, induit la formation d'une enzyme qui est à l'origine de réactions amenant le phénotype dû au gène. Ces enzymes et ces réactions sont presque toujours inconnues. Dans le cas de l'erreur congénitale du métabolisme que nous étudions, le premier effet du gène (l'étape enzymatique) est connu et c'est ce qui fait son grand intérêt.

CHAPITRE VII

Pathogénie

MODE D'ACTION DU GENE

CHEZ LE SUJET NORMAL

Les études génétiques, rapportées plus haut, ont montré que la synthèse de la G. 6P.D. dans l'hématie était sous la dépendance d'un gène lié au chromosome sexuel. On ne sait pas exactement comment ce gène transmet son information aux éléments cytoplasmiques qui synthétisent l'enzyme. On ne sait pas non plus si ce gène contrôle le métabolisme de l'enzyme ailleurs que dans les hématies. La G. 6P.D. [152] a été isolée dans de très nombreuses cellules car beaucoup de tissus utilisent la voie des pentoses pour se procurer du TPNH : globules blancs, plaquettes, hépatocytes, cellules de la corticosurrénale, de la peau, du cristallin [110 - 60], etc... Sa structure chimique est identique dans toutes ces cellules chez l'homme et chez beaucoup de mammifères, mais elle diffère un peu de celle de l'enzyme isolée dans les levures.

L'étude des sujets enzymopéniques peut nous aider à résoudre le problème de l'unicité ou de la pluralité des gènes, responsables de la synthèse de la G. 6P.D. dans les différents tissus.

Recherches du déficit enzymatique dans d'autres cellules que les hématies chez les sujets enzymopéniques

Les Globules blancs. — RAMOT [212] a retrouvé le déficit dans les leucocytes des Juifs Orientaux enzymopéniques : le taux moyen correspond chez les sujets « hypersensibles » à 22 % du taux normal et à 38 % chez les sujets « intermédiaires ». MARKS [180] a retrouvé les mêmes chiffres chez les Blancs enzymopéniques mais

n'a pas trouvé le déficit chez les Noirs Américains enzymopéniques [178]. Chez eux, le taux moyen n'est qu'à la limite du taux normal.

Les plaquettes. — Les recherches n'ont été faites que chez les Juifs Orientaux. RAMOT a montré que leurs plaquettes contiennent cinq fois moins d'enzyme que les plaquettes des sujets normaux [214 - 299].

Les hépatocytes. — Le déficit y existe nettement chez les Juifs Orientaux où il est de 75 %, moins nettement chez les Sardes [43] où il est de 40 % chez les sujets « hypersensibles » alors qu'il n'existe pas chez les sujets « intermédiaires », et n'est pas retrouvé chez les Noirs [180].

Le cristallin. — ZINKHAM y retrouve un déficit identique chez les Noirs et chez les Blancs [303].

La peau. — Les cellules épidermiques sont enzymopéniques chez les Juifs Orientaux d'après RAMOT [213].

La salive. — RAMOT [213] y a retrouvé le déficit, ce qui est intéressant, car le dosage y est aussi fidèle que dans le sang. Cela a permis de rechercher le déficit dans les tribus primitives où des tabous interdisaient les prises de sang.

Il est difficile de tirer des conclusions formelles sur ces recherches car tous les tissus n'ont pas été étudiés à la fois chez les Noirs, les Juifs Orientaux et les Sardes... Le fait de retrouver le déficit enzymatique dans la peau et le cristallin montre que le gène contrôle la synthèse de l'enzyme dans des tissus dérivés de l'ectoderme aussi bien que du mésoderme (hématies, leucocytes, hépatocytes). Le fait de ne pas trouver le déficit dans les leucocytes et les hépatocytes des Noirs peut être expliqué de deux façons : — la synthèse de l'enzyme est contrôlée par un gène unique pour tout l'organisme mais il a subi plusieurs mutations différentes chez les Noirs, les Juifs Orientaux, les Sardes. Cette mutation a entraîné chez les Noirs un déficit moins important que chez les Blancs. Il ne se manifeste que dans les cellules qui ont une longue durée de vie et un métabolisme rudimentaire, du fait de l'absence de noyau : les hématies. Les globules blancs et les hépatocytes arrivent à synthétiser normalement l'enzyme grâce à des mécanismes compensateurs. — la synthèse de l'enzyme est contrôlée par des gènes différents suivant les tissus. Chez les Noirs, les gènes contrôlant la synthèse dans les leucocytes et les hépatocytes, n'ont pas été l'objet d'une mutation contrairement à ce qui s'est passé chez les Juifs Orientaux et les Sardes.

Il ne s'agit là que d'hypothèses et d'autres recherches sont nécessaires pour trancher. Il est en particulier très important de savoir si l'enzyme des sujets enzymopéniques a exactement les mêmes propriétés que l'enzyme des sujets normaux.

Modes d'actions du gène mutant

En théorie, le gène mutant peut entraîner l'enzymopathie de diverses manières [148] : Déficit quantitatif de l'enzyme : par insuffisance de sa synthèse, accélération de sa destruction normale ou destruction anormale lors des réactions chimiques qu'elle contrôle (alors que normalement le propre des enzymes est de ne pas être modifié par celles-ci). Action d'un inhibiteur, réversible ou irréversible. Déficit d'un activateur. Synthèse d'une enzyme qualitativement anormale et inactive. Existence de plusieurs sortes d'enzymes dont une seule est modifiée.

Il se peut que le gène mutant soit différent chez les sujets « sensibles à la primaquine » (qui ont une activité enzymatique en partie conservée) et chez les sujets porteurs d'une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire (qui ont un déficit absolu). Il se peut aussi que le gène mutant soit différent chez les Noirs et chez les Blancs.

Pour résoudre ces problèmes, il est nécessaire d'isoler l'enzyme de ces différents sujets enzymopéniques et de rechercher si ces propriétés sont les mêmes chez tous et chez le sujet normal.

Extraction et purification de l'enzyme

Les premières recherches ont porté sur l'enzyme contenue dans des hémolysats mais ceux-ci contiennent d'autres substances qui gênent les expériences. KIRKMAN [146] fut le premier en 1959 à isoler et purifier l'enzyme contenue dans des hémolysats de sujets enzymopéniques. Il choisit un sujet de race noire ayant un déficit de 85 % ; il purifia l'enzyme 60 à 80 fois avec un rendement de 50 %. L'enzyme des sujets de race blanche est beaucoup plus difficile à étudier car le déficit avoisine 97 % et KIRKMAN ne put la purifier que 10 fois avec un rendement de 30 %. Par la suite, il réussit, de même que d'autres auteurs, à obtenir de meilleurs résultats quelle que soit l'origine des sujets, mais on comprend, devant les difficultés rencontrées, que seulement une quinzaine de sujets aient vu étudier leur enzyme. On comprend aussi que les résultats puissent varier suivant le mode de purification de l'enzyme : une trop grande purification peut modifier sa structure, une purification insuffisante peut laisser dans l'enzyme des impuretés qui amèneront une modification apparente de ses propriétés. De tou-

tes façons, l'analyse chromatographique d'une enzyme très purifiée montre l'existence, à côté de l'enzyme elle-même, des protéines dialysables qui ne peuvent être éliminées et dont il faudra tenir compte.

Etude des propriétés de l'enzyme

Jusqu'en 1960, on ne trouva pas de différence entre l'enzyme normale et l'enzyme mutante et on estima que la mutation n'amenait qu'un déficit quantitatif. Depuis 1961, des différences ont pu être démontrées mais les résultats varient suivant les auteurs; ces divergences peuvent s'expliquer en partie par la différence de méthodes de dosage utilisées et par la variété des races ou du degré de déficit des sujets étudiés.

PROPRIETES COMMUNES A L'ENZYME NORMALE ET A L'ENZYME DES SUJETS MUTANTS [146 - 147]

Analyse spectrophotométrique: elle montre un complexe formé par l'enzyme et par TPNH qui joue le rôle de coenzyme.

Analyse chromatographique: même tracé.

Inactivation par dilution: la dilution de l'enzyme purifiée ou de l'hémolysat entraîne en quelques heures une disparition de l'activité enzymatique. L'adjonction de G6P, de GSH, de TPN et surtout de TPNH protège l'enzyme contre cette inactivation.

Inactivation par des substances thioliprives: par les mêmes substances et aux mêmes doses.

PROPRIETES PARTICULIERES A CHACUNE DES ENZYMES

MODIFICATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE PAR L'INCUBATION A 37°

Ces modifications sont opposées suivant les méthodes de dosage utilisées et suivant que l'on s'adresse à l'enzyme contenue dans un hémolysat ou à l'enzyme purifiée. Il en résulte qu'elles ont été interprétées de façons opposées, elles aussi, par les auteurs qui les ont rapportées.

Expériences avec des hémolysats

Inactivation de l'enzyme. — CARSON [51] en 1956 a montré que l'enzyme contenue dans un hémolysat était moins stable lorsqu'on le faisait incuber 1 à 3 heures à 37°, dans le cas d'un sujet enzymopénique, que dans le cas d'un sujet normal. Ceci fut con-

firmé par MARKS et MOTULSKY en 1959. Cette thermolabilité est due au stroma contenu dans l'hémolysat et n'existe pas si on l'élimine par centrifugation. MARKS pense que cette inactivation est provoquée par une enzyme, une triphosphopyridinase qui inactive la G. 6P.D. en attaquant son coenzyme le TPN [50 - 48].

MARKS n'a pas retrouvé cette inactivation dans le cas de lysats de leucocytes.

RIMON et RAMOT [217] ont confirmé les résultats de CARSON mais ils estiment qu'il s'agit d'artefacts dûs à la technique utilisée pour les dosages de la G.6P.D. Ces résultats ne sont retrouvés qu'avec des méthodes basées sur la production de GSH et ne sont pas retrouvées avec les méthodes basées sur la réduction de TPN. Avec ces dernières méthodes, ils pensent, au contraire, avoir démontré l'existence d'un activateur dans le stroma.

Activation de l'enzyme. — L'incubation à 37°, pendant 15 minutes, d'un hémolysat enzymopénique auquel on a adjoint du stroma d'hématies normales, remonte le taux de l'enzyme à un taux normal. Si on ajoute au mélange en incubation du stroma enzymopénique, cela n'empêche pas l'activation, ce qui prouve l'absence d'inhibiteur dans le stroma enzymopénique. Par contre, si on remplace le stroma normal par du stroma enzymopénique, l'activation n'a pas lieu. Le stroma normal contient donc un activateur dont les conditions d'action montrent qu'il s'agit d'une enzyme: il peut être réutilisé pour activer d'autres hémolysats; son action ne dépend pas de sa quantité, qui n'intervient que pour modifier la rapidité de l'activation; il dépend étroitement de la température et du pH. L'activateur est très difficile à extraire du stroma, car il est facilement détruit, notamment par la congélation (alors que l'enzyme garde ses propriétés). Les groupements SH semblent jouer un rôle important dans cette activation car elle est inhibée par des poisons thioliprives. RAMOT compare l'action de cet activateur à l'activation de la chymotrypsine par la trypsine ou de la phosphorylase par son activateur.

RAMOT [211 - 217] conclut que la G. 6P.D. est synthétisée sous une forme inactive à un taux identique chez les sujets normaux et chez les sujets dits « enzymopéniques ». Chez le sujet normal, elle est activée par un constituant du stroma, jusqu'à un taux maximum qui ne peut être dépassé (l'adjonction de stroma normal à un hémolysat normal ne modifie pas son taux enzymatique). Chez le sujet « enzymopénique », le déficit génétique est, en fait, un déficit en activateur.

MARKS, bien qu'il ait en partie retrouvé ces résultats, ne les considère pas comme probants; en particulier, il avance qu'une grande partie de l'augmentation du taux de l'enzyme est due à l'enzyme contenue dans le stroma normal ajouté.

RAMOT et RIMON estiment que le fait que l'adjonction de stroma normal à un hémolysat normal n'augmente pas le taux de l'enzyme, prouve que cette objection n'est pas valable.

Expérience avec l'enzyme purifiée

MARKS, bien que doutant de l'existence de l'activateur contenu dans le stroma, a démontré que l'enzyme existait sous deux formes: une active et une inactive. L'incubation à 37° de l'enzyme purifiée (et non plus de l'hémolysat comme dans les paragraphes a et b) active l'enzyme, mais cette activation est plus importante dans le cas de l'enzyme normale que dans le cas de l'enzyme des mutants. Il en conclut que les sujets mutants ont un pourcentage plus important d'enzyme inactive ou manquent d'un activateur.

La conclusion que MARKS [181] tirait de toutes ces recherches était qu'en fin de l'année 1960, rien ne prouvait mais que rien ne s'opposait non plus à la formation d'une enzyme qualitativement anormale chez les sujets mutants.

MISE EN EVIDENCE D'ENZYMES QUALITATIVEMENT DIFFERENTES

En 1961, MARKS et KIRKMAN amenaient la preuve de cette possibilité: MARKS [179] a étudié les propriétés de l'enzyme extraite des hématies de 4 sujets enzymopéniques: une femme et deux hommes Italiens ayant un déficit « intermédiaire » et un métis (Noir-Blanc) hypersensible. KIRKMAN [149 - 150] a étudié celles de l'enzyme extraite des hématies d'un garçon atteint d'une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire et des hématies de son cousin germain.

Ils leur ont trouvé des propriétés différentes en ce qui concerne les points suivants (alors que jusqu'ici on considérait que ces propriétés étaient identiques chez les sujets normaux et mutants):

— Vitesse de migration à l'électrophorèse: chez trois sujets étudiés par MARKS.

— Affinité pour TPN et G6P. L'activité d'une enzyme dépend du taux de coenzyme et de substrat contenu dans le milieu étudié. On a l'habitude de désigner sous le nom de constante de Michaelis la concentration d'une substance qui permet à une enzyme d'opérer

à la moitié de son activité maximum. Plus cette constante est faible, plus l'affinité de l'enzyme pour cette substance est grande. Jusqu'alors on considérait que cette constante pour TPN et G6P était la même quelle que soit l'origine de l'enzyme; mais chez les quatre sujets étudiés par MARKS la constante est plus grande pour TPN et chez ceux étudiés par KIRKMAN, pour TPN, G6P, et 2 desoxyglucose 6 phosphate.

— pH optimum d'activité: modifié chez les deux sujets de KIRKMAN.

Conclusion

Actuellement, trois théories s'affrontent pour expliquer le mode d'action du gène chez les sujets enzymopéniques.

RIMON et RAMOT [211 - 217] pensent que l'enzyme est synthétisée sous une forme inactive, au même taux chez les sujets normaux et ceux dits « enzymopéniques ». Elle doit être activée par un activateur contenu dans le stroma, activateur qui est déficitaire chez les sujets dits « enzymopéniques ». Le gène entraîne donc, selon eux, un déficit en activateur et non en enzyme.

KIRKMAN [150] pense que l'enzyme des sujets sensibles à la primaquine est la même que celle des sujets normaux, mais diffère de celle des sujets présentant une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire. Il y aurait donc plusieurs allèles du gène n'agissant pas de la même façon; un entraînerait la formation d'une enzyme en quantité diminuée, un autre la formation d'une enzyme qualitativement différente et inactive.

MARKS et GROSS [179] concluent eux aussi à plusieurs mutations entraînant la formation d'enzymes qualitativement différentes.

D'autres recherches sont nécessaires pour conclure; il faut étudier les propriétés de l'enzyme extraite du sang et d'autres tissus chez de nombreux individus de races variées et présentant, soit une sensibilité à la primaquine, soit un favisme, soit une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire. Il faut essayer de ne pas dénaturer l'enzyme lors des manœuvres de purification. Ces études sont très intéressantes, car on ne sait pas encore si le déficit en G.6P.D. qui survient dans les hématies normales lorsqu'elles vieillissent a un rapport avec leur mort. Mais il y a un point qu'il ne faut pas perdre de vue: les sujets « sensibles à la Primaquine » n'ont pas qu'un déficit en G.6P.D., ils ont aussi un déficit en catalase qui a encore été très peu étudié et qui a peut-être une grande importance.

MODE D'ACTION DU DEFICIT ENZYMATIQUE MECANISME DE L'HEMOLYSE

Qu'il y ait formation ou non d'une enzyme inactive ou qu'il y ait seulement insuffisance de synthèse, le résultat est le même : une insuffisance de l'activité enzymatique de la G.6P.D. Nous allons étudier ses conséquences en dehors ou en cas d'agression médicamenteuse et nous allons rechercher le mécanisme intime de l'hémolyse qui en résulte.

ACTION DU DÉFICIT ENZYMATIQUE EN DEHORS DE TOUTE AGRESSION MÉDICAMENTEUSE

On pensait jusqu'ici que, grâce à des mécanismes compensateurs, le déficit enzymatique n'avait aucune conséquence pathologique tant que les sujets « enzymopéniques » ne prenaient pas de médicaments ou de fèves crues sauf dans les cas rarissimes d'anémies hémolytiques congénitales non sphérocytaires. En fait, BREWER [36] a montré en marquant des hématies avec du Cr^{51} ou du DFP^{32} (diisopropylfluorophosphate marqué, isotope d'utilisation très récente dans le marquage des hématies), que la durée de vie des hématies enzymopéniques était légèrement inférieure à la normale. Il a trouvé une demi-vie de vingt jours au lieu de trente, avec le Cr^{51} et de 48 au lieu de 66, avec le DFP^{32} . Cette découverte est très importante ; elle démontre que le déficit enzymatique entraîne toujours une hémolyse accrue mais celle-ci est d'intensité variable : infraclinique chez le sujet « enzymopénique » en dehors de la prise de médicaments, aiguë en cas d'agression médicamenteuse, chronique dans certains cas d'anémies hémolytiques congénitales non sphérocytaires. Cette durée de vie raccourcie est due à un vieillissement accéléré des hématies enzymopéniques. L'étude au microscope électronique [68] a montré que les membranes cellulaires des hématies « sensibles » avaient un aspect prématurément vieilli. Le microscope électronique permet de reconnaître dans les hématies normales deux aspects de membranes cellulaires : uni qui correspond aux cellules âgées ou granuleux qui correspond aux cellules jeunes. Dans le cas des sujets « sensibles », la majorité des hématies a une membrane unie, et ces cellules seront précisément hémolysées.

ACTION DU DÉFICIT ENZYMATIQUE EN CAS D'AGRESSION MÉDICAMENTEUSE

Les hématies « sensibles » qui, en dépit de leur vieillissement précoce, arrivent, tant bien que mal, à avoir une durée de vie à peine raccourcie, vont succomber. Les mécanismes compensateurs,

qui leur permettent en dépit de leur déficit enzymatique, d'avoir une glycolyse normale, se révèlent insuffisants pour lutter contre l'agression médicamenteuse. BEUTLER compare l'hématie « sensible » à une barque qui sombre, du fait d'une voie d'eau, lorsque son équipage n'arrive plus, avec sa pompe, à rejeter toute l'eau qui y pénètre [20].

Il semble que l'élément le plus grave soit le *déficit en TPNH* que nous avons vu dans un précédent chapitre être la conséquence principale du déficit en G.6P.D. [116]. SZEINBERG, en 1961, utilisant des pentoses avec carbone marqué, démontra que les médicaments responsables de l'hémolyse exagéraient la glycolyse par la voie des pentoses de Horecker chez les sujets « sensibles » [269]. Comme ce système de glycolyse sert essentiellement à produire du TPNH, cela prouve que l'agression médicamenteuse force les hématies à fabriquer plus de TPNH pour essayer de lui résister, mais ce TPNH est rapidement détruit par les médicaments qui l'oxydent grâce à la diaphorase II isolée par SCOTT et GRIFFITH (diaphorase qui intervient par ailleurs dans la réduction de la méthémoglobine [243]). Le déficit en TPNH entraîne la mort de la cellule ; le TPNH est un des produits les plus importants du métabolisme cellulaire et son rôle essentiel est d'empêcher l'oxydation de l'hémoglobine. Cette oxydation dont le terme ultime est l'hémolyse, se fait en plusieurs étapes. La première est réversible et amène la formation de méthémoglobine ; les étapes suivantes sont irréversibles et donnent naissance à la sulfhémoglobine, la verdoglobine, la choléglobine, etc... JANDL [136], en faisant agir ces médicaments sur des solutions d'hémoglobine cristallisée obtenue à partir d'hématies humaines, a réalisé ces diverses étapes et a démontré que ces pigments précipitaient sous forme de granulations identiques aux corps de Heinz.

La seule source de TPNH de l'hématie réside dans les deux premières réactions de la voie des pentoses de Horecker ; on conçoit que les sujets qui ont un déficit en G.6P.D. fassent une hémolyse en cas d'agression médicamenteuse, car ils n'arrivent pas à fabriquer assez de TPNH pour protéger leurs hématies. Il se peut aussi que le déficit en TPNH ait d'autres conséquences qui aient leur part de responsabilité dans l'hémolyse. On ne connaît pas toutes les actions du TPNH mais on sait qu'il intervient dans de nombreuses réactions :

dans le métabolisme lipidique, lors de la formation des acides gras de la membrane cellulaire. Cette dernière joue certainement un rôle dans la résistance à l'hémolyse.

dans la formation du GSH mais contrairement à ce que l'on avait cru tout d'abord, le *trouble du GSH*, constaté chez les sujets sensibles, semble contingent.

BENESCH avait montré dès 1954 que la destruction des groupements SH de l'hématie normale, par des substances chimiques, dites pour cette raison thioliprives, entraînait une diminution de la résistance à l'hémolyse et il en déduisit que les groupements SH jouaient un rôle primordial dans le maintien de l'intégrité cellulaire [17]. L'hématie a d'autres groupements sulfhydryles (cystéine), mais seuls ceux du GSH sont libres. On admit donc que le rôle du GSH cellulaire, dont on ne connaissait aucune utilisation, était celui de réservoir de groupements sulfhydryles.

BEUTLER, constatant un taux de GSH diminué chez les sujets sensibles, en cas d'agression médicamenteuse, en déduisit que la Primaquine agissait en détruisant les groupements SH. Pour appuyer sa théorie, il réalisa le test des corps de Heinz sur des hématies normales, ayant préalablement subi l'action de substances thioliprives. Ces hématies normales se comportèrent comme des hématies sensibles et eurent, dans une grande proportion, leur cytoplasme bourré de corps de Heinz. Mais d'une part, cette expérience n'est pas probante car elle place l'hématie dans des conditions très peu physiologiques et d'autre part certaines constatations ultérieures vinrent minimiser le rôle du GSH :

a) certains corps comme l'acide ascorbique donnent un test de corps de Heinz et un test de stabilité positifs chez le sujet « sensible » et pourtant ne provoquent jamais d'hémolyse [20].

b) il n'y a pas de parallélisme obligatoire entre l'importance du déficit enzymatique et l'instabilité du GSH [119], entre le degré d'hémolyse par la Primaquine et cette instabilité (les expériences d'ALVING montrèrent que des femmes à GSH stable hémolysaient cependant avec la Primaquine) [10].

RÔLE DU DÉFICIT EN CATALASE

Le déficit en catalase, découvert en 1961 par TARLOV [279] chez les sujets « sensibles », joue aussi un rôle dans le mécanisme de l'hémolyse. La catalase n'intervient pas dans la glycolyse mais elle protège, comme le TPNH, l'hémoglobine contre sa dénaturation. Il se peut qu'elle ait d'autres rôles; le fait qu'elle soit la seule enzyme à diminuer pendant l'hémolyse a peut-être une importance que nous ne comprenons pas encore.

CONCLUSION

Beaucoup de problèmes se posent encore et de nombreuses expériences sont en cours :

Il faut expliquer comment des médicaments, qui sont le plus souvent des substances réductrices, peuvent oxyder le TPNH et

l'hémoglobine. On pense qu'ils agissent par l'intermédiaire de produits de dégradation qui, eux, sont oxydants et qui transmettent ce que l'on appelle « le potentiel oxydatif de l'oxygène » (on a pu d'ailleurs obtenir la dénaturation de l'hémoglobine avec de l'oxygène pur). Peut-être est-ce parce qu'elle est la cellule la plus oxygénée de l'organisme, que l'hématie est électivement atteinte parmi toutes les cellules porteuses du déficit enzymatique.

On peut se demander si la membrane cellulaire n'est pas plus fragile dans les hématies sensibles. CARSON [48] insiste sur sa richesse en groupements SH et estime que la chute du GSH provoquée par la Primaquine, la rend vulnérable en la privant du réservoir de SH que constitue le GSH. Les travaux de WEED, en 1961, n'ont pas mis en évidence d'anomalie histochimique : il a recherché l'effet de doses de Primaquine très inférieures aux doses amenant l'instabilité du GSH et l'hémolyse, mais n'a pas trouvé de différence entre l'hématie normale et l'hématie sensible : la Primaquine entraîne dans les deux cas, une perte identique en potassium intracellulaire [293].

En conclusion, bien des inconnues persistent, mais il semble que le pivot du mécanisme intime de la sensibilité aux médicaments soit découvert : l'hématie sensible, du fait de son déficit en TPNH et en catalase, protège mal son hémoglobine contre sa dénaturation. Chez un sujet « sensible », en bonne santé, ne prenant aucun médicament, la protection de l'hémoglobine est assurée presque aussi longtemps que chez un sujet normal grâce à des mécanismes compensateurs ; la durée de vie des hématies est à peine diminuée. Au contraire, dans le cas de prise de médicaments, il se produit rapidement la dénaturation de l'hémoglobine et l'hémolyse.

Cette découverte est très importante car on peut se demander si elle ne s'applique pas à l'ensemble des sujets humains, qu'ils aient ou non le déficit enzymatique. La cause de la mort des hématies est mystérieuse ; on peut soulever l'hypothèse qu'elle résulte d'une dénaturation de l'hémoglobine, conséquence de la baisse de l'activité en G.6P.D. constatée dans toutes les hématies lorsqu'elles vieillissent [116]. D'après LOHR et WALLER [166 - 291], la G.6P.D. et la glycéraldéhyde 3 phosphate deshydrogénase sont les seuls enzymes de l'hématie dont l'activité diminue avec le vieillissement. Cette diminution de l'activité de la G.6P.D. avec le vieillissement se fait-elle par le même mécanisme dans les hématies normales que dans les hématies sensibles ? La question n'est pas tranchée.

DEUXIEME PARTIE

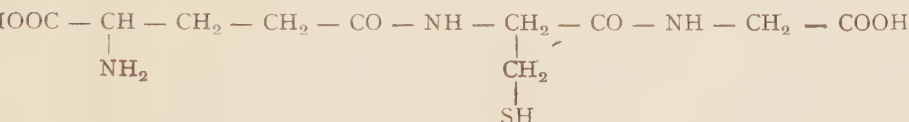
TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE PREMIER

Méthodes de dosage

PRINCIPES

Le glutathion réduit ou γ glutamyl-cysteinyl-glycine répond à la formule développée :



La difficulté de son dosage résulte de sa tendance spontanée à l'auto-oxydation. De nombreuses méthodes peuvent être utilisées, mais les plus couramment employées sont [203] :

La méthode iodométrique [203] ; la méthode au nitroprussiate de GRÜNERT et PHILLIPS [122], modifiée par BEUTLER [24] ; la méthode à l'alloxane de PATTERSON et LAZAROW [203] ; la méthode colorimétrique de STEVENSON [261].

Toutes peuvent être utilisées pour le dosage du GSH dans le sang et le choix dépend de la précision exigée pour le résultat. En effet, comme le montre le tableau ci-après, elles ne dosent pas uniquement le glutathion.

Méthode idiométrique [203]

C'est la méthode la plus souvent employée. Elle est basée sur l'oxydation quantitative du groupement SH par l'iode. En pratique,

on dose par de l'iodate de potassium une solution contenant: le GSH, de l'amidon qui sert d'indicateur interne, un excès d'iodure de potassium qui stabilise la coloration. Cette méthode dose aussi l'acide ascorbique, il est donc nécessaire de faire une correction, soit en dosant l'acide ascorbique, avec le 2-6 dichlorophénolindophénol et en le retranchant du résultat trouvé, soit en le détruisant avec l'acide ascorbique-oxydase. La sensibilité de la méthode n'est que de 100 μ grammes.

Méthode	Iodom.	Nitrop.	Allox.	Stevenson
Sensibilité en μ gr.	100	10	1	10
G S H	+	+	+	+
Cysteine	+	+	-	+
Cysteinyl - Glycine	+	+	-	+
Glutamyl - Cysteine	+	+	-	+
Ergo - Thionine	+	+	-	+
Acide Ascorbique	+	-	-	-

Méthode de Grünert et Phillips modifiée par Beutler [122, 24]

C'est une méthode spectrophotométrique basée sur l'action du nitroprussiate sur le groupement sulfhydryl libre. Le complexe GSH-nitroprussiate formé est stabilisé par addition de cyanure. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en groupements SH; elle varie avec la température et le temps; il faut donc opérer dans des conditions très précises. Cette réaction est spécifique car le filtrat de sang total, traité par l'acide métaphosphorique (utilisé pour précipiter les protéines), ne contient que des quantités insignifiantes d'autres groupements SH libres: cystéine, cysteinylglycine, glutamyl-cysteine, ergothionine. Contrairement à la méthode iodométrique, elle ne dose pas l'acide ascorbique; elle est aussi plus sensible: 10 μ grammes au lieu de 100 μ grammes.

Méthode à l'alloxane de Patterson et Lazarow [203]

C'est un dosage spectrophotométrique basé sur la formation d'un complexe GSH-alloxane, dans un milieu légèrement alcalin, avec un maximum d'absorption à 305 millimus. C'est la méthode la plus spécifique, car elle ne dose pour ainsi dire pas : cysteine, ergothionine, cysteinylglycine et glutamylcystéine. Elle a une sensibilité de 1 μ gramme.

Méthode colorimétrique de Stevenson

Elle est basée sur la réaction d'un disulfure de bis para-amino-phénol avec les mercaptans ; elle donne un anion nitrobenzène-thiol, de coloration jaune et stable. Les résultats sont comparables à ceux obtenus avec la méthode au nitroprussiate de Grünert et Phillips, mais la méthode colorimétrique est plus simple et, surtout, le complexe obtenu a une coloration stable permettant de l'utiliser comme méthode de routine. Contrairement à la méthode au nitroprussiate, où toutes les opérations sont chronométrées, on peut opérer dans un temps quelconque et par conséquent doser des échantillons nombreux.

METHODES UTILISEES

Nous avons utilisé la méthode à l'alloxane que nous avons choisie pour sa précision et pour sa haute spécificité, mais nous avons été obligés de la remplacer par la méthode au nitroprussiate, lorsque nous avons pratiqué le test de stabilité du glutathion car l'alloxane réagit avec l'acétyl-phényl-hydrazine en donnant un complexe de coloration illisible dans l'ultraviolet.

Méthode à l'alloxane

PRINCIPE

Dosage spectrophotométrique, dans l'ultraviolet à 305 millimus, d'un complexe GSH-alloxane.

MODE OPÉRATOIRE

Cette méthode peut être utilisée en micro ou en macro méthode. Nous l'avons pratiquée en macrométhode, en utilisant du sang prélevé sur A.C.D. additionné d'héparine (la quantité d'anticoagulant ajoutée, à raison de 10 % environ, n'intervient pas puisque dans

les calculs, on tient compte de l'hématocrite). Le dosage doit être fait dans les huit jours qui suivent le prélèvement du sang (à condition qu'il soit conservé au frigidaire).

Hémolyse: On met dans le tube à centrifuger 1 ml de sang et 7 ml d'eau distillée. On laisse en contact pendant 10 minutes.

Précipitation des protéines: Après hémolyse complète, on ajoute 2 ml d'acide métaphosphorique à 25 %. On agite et on centrifuge pendant dix minutes à 3 000 tours-minute. On filtre sur papier Whatmann n° 2.

Addition des réactifs: Pour chaque sang, il faut préparer quatre tubes (et six de préférence pour avoir deux dosages pour un sang étudié). Ces tubes dénommés A, A₀, B, B₀, seront lus au spectrophotomètre et le résultat final sera: (A — A₀) — (B — B₀). On met dans deux tubes 1 ml de défécât, soit A et A₀ ces tubes B et B₀ deux tubes vides. On ajoute, alors, les réactifs comme indiqué sur le tableau ci-dessous:

Tubes n°	A	A ₀	B	B ₀
Défécât	1 ml	1 ml	O	O
Acide métaphosphorique 5 %	O	O	1 ml	1 ml
Eau distillée	O	1 ml	O	1 ml
Alloxane O, 1 M	1 ml	O	1 ml	O
Tampon pH : 7,5	1	1	1	1 ml
Na OH 0,5 équivalent	1	1	1	1 ml
Temps de repos	6'	6'	6'	6'
Na OH N	1	1	1	1 ml
Volume total	5	5	5	5 ml

Le filtrat, l'acide métaphosphorique à 5 %, l'eau et l'alloxane sont ajoutés, sans tenir compte du temps entre chaque addition mais les opérations suivantes sont minutées. La solution de phosphate tampon et la solution équivalente de soude sont placées dans des microburettes, pour que ces deux réactifs puissent être ajoutés dans une succession rapide. Ensuite, on stoppe la réaction et on stabilise les produits de réaction, en ajoutant 1 ml de soude exactement six minutes après l'addition de la solution équivalente de soude. On procède en série et en six minutes on peut préparer 10 tubes.

Détermination colorimétrique: La lecture spectrophotométrique se fait dans la demi-heure qui suit. Nous utilisons un spectrophotomètre.

tre de Jobain et Yvon et des cellules en quartz car la lecture se fait en ultraviolet à 305 millimus. En déterminant l'absorption du tube A, le tube A_0 est utilisé comme témoin. Ceci corrige l'absorption non spécifique du sang filtré et des réactifs utilisés dans la réaction. La correction pour l'absorption des produits de décomposition de l'alloxane est déterminée en mesurant l'absorption du tube B, le tube B_0 étant un témoin. Cette valeur est soustraite du résultat, lu avec le mélange réactionnel et le résultat final est $(A - A_0) - (B - B_0)$.

Calcul: Une courbe étalon est faite, chaque fois que l'on change de réactifs. Cette courbe standard est une droite, on y porte la densité optique trouvée et on lit le chiffre de GSH. Ce dernier doit être multiplié par le chiffre de dilution: 10 ici (1 ml de sang donne 10 ml de filtrat) et corrigé du fait de la dilution résultant de l'anti-coagulant (donc en fonction de l'hématocrite). Le chiffre est donné en mgr par 100 ml d'hématies.

Les réactifs :

Acide métaphosphorique: une solution mère à 25 %, stable un mois si elle est conservée au frigidaire ; une solution à 5 % préparée à chaque manipulation par dilution au $1/5$ de la solution mère.

Solution d'alloxane: Une solution 0,1 M est préparée en dissolvant 8 gr d'alloxane dans la quantité d'eau distillée suffisante pour avoir 500 ml de solution. Cette solution se conserve une semaine au frigidaire.

Phosphate tampon (0,5 M à pH: 7,5): est préparée à chaque manipulation, à partir de deux solutions A et B, stables à la température ordinaire.

La solution A est une solution de 179 gr de $\text{PO}_4\text{Na}_2\text{H}$, 12 H_2O dans de l'eau distillée, en quantité suffisante pour avoir 1.000 ml. La solution B est une solution de 68 gr de PO_4KH_2 dans de l'eau distillée, en quantité suffisante pour avoir 1.000 ml. La solution de phosphate tampon de pH 7,5 est obtenue en mélangeant 420 ml de solution A à 80 ml de solution B. Le pH de la solution tampon est contrôlé au pHmètre après dilution au $1/5$.

Solution équivalente de soude: NaOH 0,5 N. Elle est préparée en dissolvant 10,5 gr d'hydroxyde de sodium dans l'eau et en diluant à 500 ml. Cette solution est étalonnée par rapport à un mélange d'acide métaphosphorique et d'alloxane, de la manière suivante: on titre un mélange de 10 ml d'acide métaphosphorique à 5 % et 10 ml d'alloxane 0,1 M, par de la soude 0,5 N, de façon à obtenir un pH final de 7,5 (le pH est vérifié à l'aide d'un pHmètre). On corrige

la soude, de façon à utiliser exactement 10 ml de soude 0,5 N pour amener à pH 7,5 le mélange de 10 ml d'acide métaphosphorique à 5 % et 10 ml d'alloxane 0,1 M.

Nous avons préféré utiliser, comme solution équivalente de soude, de la soude normale que nous avons diluée en proportion correcte pour qu'elle ait les caractéristiques demandées ci-dessus. Cette solution équivalente de soude est à préparer à chaque manipulation.

Solution de soude normale: nécessite seulement d'être approximative puisqu'elle n'est utilisée que pour préparer la solution équivalente de soude ou stopper la réaction et stabiliser le produit de réaction.

Etalon de glutathion: est une solution de 5 mgr de glutathion, dans de l'acide métaphosphorique à 5 %, de façon à avoir 100 ml de solution. Celle-ci ne se conserve pas. Le dosage sera fait sur des solutions contenant 0,5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 et 5 mgr % de GSH.

Méthode au nitroprussiate :

PRINCIPE

Dosage spectrophotométrique, à 520 millimus, d'un complexe GSH-nitroprussiate, stabilisé par addition de cyanure.

MODE OPÉRATOIRE

Nous utilisons du sang, prélevé au maximum une semaine avant, sur A. C. D. additionné d'héparine (1 ml pour 9 ml de sang) et gardé au frigidaire.

Hémolyse: Dans un tube à essai, on met 1 ml de sang et 3,70 ml d'eau distillée. On mélange, sans retourner le tube et on laisse au repos dix à quinze minutes, pour avoir une hémolyse complète.

Précipitation des protéines: Lorsque l'hémolyse est terminée, on ajoute 3,40 ml d'acide métaphosphorique à 4,5 % et on agite fortement le tube pendant 5 minutes exactement, sans le retourner. Puis on ajoute immédiatement 3,170 gr de chlorure de sodium, pesés à l'avance et on agite, vigoureusement, deux minutes exactement. Cette fois, pour agiter, on recouvre l'ouverture du tube avec un papier de cellophane tenu par le pouce et on retourne le tube pendant deux minutes ; puis on filtre sur papier filtre Whatmann n° 2.

Réaction colorimétrique: Dans une cuve en verre de 3 ml (cuve du spectrophotomètre) propre et sèche, on ajoute successivement 1,5 ml de solution aqueuse saturée de ClNa et 0,5 ml de filtrat, prélevé avec une pipette de précision de 1 ml, graduée à 0,01 ml. Près du spectrophotomètre, on ajoute en surface (c'est-à-dire en appuyant la pipette sur le bord de la cuve) 0,25 ml de solution de nitroprussiate puis immédiatement 0,25 ml de solution de cyanure-carbonate. On agite, en retournant la cuve bouchée, ici aussi, par du papier cellophane, on sèche l'extérieur de la cuve et on lit à 520 millimus, moins de 30 secondes après avoir ajouté la solution de cyanure-carbonate, car, comme nous le verrons plus loin, le temps joue un grand rôle.

Théoriquement on devrait placer à l'avance, dans un bain-marie à 20° : la cuve contenant 1,5 ml de solution aqueuse saturée de chlorure de sodium et les flacons colorés, contenant les solutions de nitroprussiate et de cyanure-carbonate; mais nous n'avions pas de bain-marie à 20° et nous nous sommes contentés de laisser la solution aqueuse saturée de chlorure de sodium à la température du laboratoire ($20-22^{\circ}$ environ) et les solutions de nitroprussiate et cyanure carbonate à la température du laboratoire et à l'obscurité.

Témoin: On fait un témoin pour chaque série de dosages. On met dans une cuve: 0,5 ml de solution d'acide métaphosphorique à 2 % saturée en chlorure de sodium, 1,5 ml de solution aqueuse saturée en ClNa , 0,25 ml de nitroprussiate et 0,25 de solution cyanure-carbonate. On lit au spectrophotomètre à 520 millimus par rapport à de l'eau distillée.

Étalon du glutathion: On utilise du glutathion réduit (1). Il existe toujours une faible proportion de glutathion oxydé dans l'étalon, proportion qui varie de 0 à 2 %. La solution étalon est une solution de 40 mgr de glutathion pour 100 ml d'eau distillée. On dilue cette solution mère en proportion convenable pour obtenir des solutions contenant 10, 20, 30, 40 mgr % de GSH et on fait le dosage en remplaçant 1 ml de sang par 1 ml de ces solutions.

La courbe étalon est linéaire. On porte en abscisse la densité optique et en ordonnée le pourcentage de GSH.

Calcul du résultat du dosage. — Soit, par exemple, un sang ayant un hémocrite de 450 ml d'hématies pour 550 ml de plasma.

(1) Le glutathion réduit nous a été offert par les Laboratoires Hoffman-La Roche, que nous remercions vivement pour leur obligeance.

La lecture au spectrophotomètre a donné une densité optique de 176 pour le mélange en réaction et de 45 pour le témoin. La densité optique, due au GSH, est de: $176 - 45 = 131$, ce qui correspond sur la courbe étalon à 32,5 mgr %. Le taux de GSH/100 ml d'hématies est donc, compte tenu de l'hématocrite, de:

$$\frac{32,5 \times 1\,000}{450} = 70 \text{ mgr/100 ml d'hématies.}$$

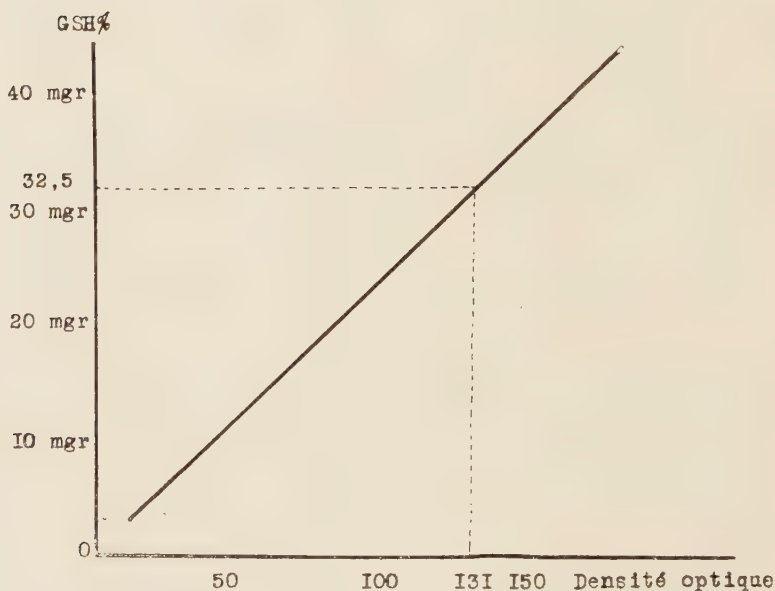


FIG. 8.

LES RÉACTIFS

Solution mère d'acide métaphosphorique à 25 % : Cette solution est stable pendant un mois, si elle est conservée au frigidaire. On utilise, pour la préparer, de l'acide métaphosphorique vitreux, très difficilement soluble dans l'eau; la dissolution est plus rapide, lorsqu'on utilise un agitateur mécanique. Il est nécessaire de filtrer cette solution sur laine de verre.

Solution d'acide métaphosphorique à 4,5 % : Elle est instable et on la prépare pour chaque manipulation par dilution de la solution mère.

Solution d'acide métaphosphique à 2 % saturée en ClNa: Préparée, par dilution appropriée de la solution mère (4 ml de solution mère et on complète à 50 ml avec de l'eau distillée) puis saturation avec du chlorure de sodium.

Chlorure de sodium: ClNa en poudre.

Solution aqueuse saturée de ClNa: Pour que la solution soit bien saturée, il faut qu'il y ait dans le fond du flacon une assez grande quantité de ClNa qui ne soit pas dissous.

Solution de Nitroprussiate de soude à 2 % Se conserve environ trois semaines en verre coloré et à l'obscurité.

Solution de cyanure de sodium (0,067 M) et carbonate de soude (1.5 M): C'est un mélange de 328 mgr de CNNa et 15,9 gr de CO_3Na_2 . Comme la précédente, elle se garde trois semaines. Il est important de commencer par introduire les 15,9 gr de carbonate de soude, dans un flacon jaugé, sec, car ce produit, très hydrophile, a tendance à s'amalgamer et donc à boucher le col mouillé du flacon. On ajoute ensuite de l'eau distillée pour le dissoudre, sa dissolution est exothermique, puis on ajoute 328 mgr de cyanure de sodium et on complète à 100 ml.

LE TEST DE STABILITE DU GSH

Le test de stabilité du GSH a été mis au point, en 1957, par BEUTLER qui, depuis, a légèrement modifié sa technique en enrichissant en sucre l'anticoagulant sur lequel est prélevé le sang: il a remplacé l'héparine par de l'A.C.D., ce qui n'oblige plus à faire le test dans les 3 heures qui suivent la prise de sang mais permet de le faire dans les 8 jours, à condition de garder le sang au frigidaire.

PRINCIPE

En cas de déficit des hématies en G. 6P.D., le taux de GSH sanguin s'effondre, après incubation pendant 2 heures, à 37°, avec de l'acétyl-phényl-hydrazine (A.P.H.), en dessous de 35 mg/100 ml d'hématies.

MODE DE PRÉLÈVEMENT DU SANG

Pour nos recherches sur l'instabilité transitoire du nouveau-né, le sang a été prélevé uniquement sur héparine et le dosage a été effectué dans les trois heures qui ont suivi le prélèvement. Pour

nos autres recherches, le sang a été prélevé sur un mélange d'A.C.D. (1/10 de la quantité de sang prélevé) et d'héparine (2 gouttes), mélange employé aussi pour le dosage simple du GSH.

MODE OPÉRATOIRE

a) Dans un premier temps, on dose le GSH par la méthode au nitroprussiate.

b) Dans un deuxième temps, on met au bain-marie à 37°, pendant deux heures, un tube contenant de l'A.P.H. (nous verrons dans l'étude des réactifs dans quelle proportion) et 1 ml de sang à doser. Il est indispensable d'oxygéner le sang, avant de le mettre au bain-marie, puis à la fin de la première heure et de la deuxième heure ; pour cela on fait rouler le tube, rapidement, entre les paumes des mains.

Lorsqu'on sort le tube du bain-marie, on répète le dosage du GSH par la méthode au nitroprussiate et on voit alors si le taux de GSH s'est modifié et donc s'il est stable ou non.

LES RÉACTIFS

Tubes contenant l'APH: On prépare une solution contenant 200 mgr d'A.P.H. pour 2 ml d'alcool méthylique purifié. On répartit rapidement cette solution, très volatile, d'A.P.H., à raison de 0,05 ml, déposés dans le fond de chaque tube, avec une pipette de précision. On met ensuite ces tubes à l'étuve à 65° jusqu'à l'obtention d'une cristallisation de l'A.P.H. Seuls les tubes contenant des cristaux blancs sont utilisés. Ils peuvent être conservés, au maximum 3 semaines, à condition d'être à l'obscurité.

Les autres réactifs: Ce sont ceux utilisés pour la méthode au nitroprussiate.

CAUSES D'ERREUR

Chaque étape du dosage peut introduire des erreurs dans le résultat final.

PRÉLÈVEMENT: NATURE DE L'ANTICOAGULANT ET MODE DE CONSERVATION

La nature de l'anticoagulant n'intervient pas si le dosage est fait dans un délai normal après le prélèvement. Mais si le sang est conservé sur héparine (plusieurs jours, même à + 4°), une instabilité du GSH apparaît. Nous l'avons constaté pour le sang de Mi...,

conservé 7 jours, à $+ 4^{\circ}$; le GSH était de 61,48 mg/100 ml d'hématies, avant incubation avec l'A.P.H., et de 29,28 mg/100 ml après. Un autre échantillon du même sujet, conservé sur A.C.D., pendant le même temps dans les mêmes conditions, donnait les résultats suivants : 63,92 avant A.P.H. et 63,12 après. Le taux initial du GSH sanguin n'est donc pas influencé par le mode de conservation ; celui-ci intervient, par contre, dans le résultat du test de stabilité du GSH puisqu'il a fait apparaître dans le cas de notre sujet Mi... une fausse instabilité, lorsque le sang était prélevé sur héparine. Cette instabilité est la conséquence de l'hypoglycémie, entraînée par la conservation du sang, sur un milieu anticoagulant non enrichi en sucre. Nous l'avons vérifié : la glycémie, normale au départ, était de 0,23 gr au moment du dosage.

INCUBATION AVEC L'A.P.H.

La cristallisation de l'A.P.H. ne se fait pas de façon identique dans tous les tubes ; nous avons recherché si cela n'intervenait pas dans nos résultats. Pour cela, nous avons fait incuber du sang d'un sujet donné, dans deux tubes, préparés de façon identique.

	taux initial du GSH	taux de GSH après incubation	
		1er tube	2ème tube
MOG... Père	70,49	46,83	14,26
MOG... Oncle	48,26	24,94	22,78
MIN... M.T.	35,59	38,43	33,29
SAL... Ant.	62,57	17,01	17,01

On constate dans trois des cas étudiés, une variation relativement importante, pouvant aller jusqu'à 15 % mais qui n'a pas d'importance pour l'interprétation du test, sauf dans le cas d'un taux voisin de 35 mgr. Chez MOG... Père et MOG... Oncle, l'instabilité est nette et indiscutable. Chez MIN... un des résultats serait en faveur d'une instabilité, mais il s'agit d'un taux limite. Nous avons donc refait un dosage, trois mois plus tard (en dehors d'une poussée hémolytique) et nous avons trouvé :

44,84 avant A.P.H.
39,12 après A.P.H.

Nous avons pu conclure à l'absence d'une instabilité du GSH chez cet enfant.

Ces variations sont dues aux causes suivantes :

différence de cristallisation de l'A.P.H. dans les tubes,
différence d'oxygénation en cours d'incubation,
erreurs dues au dosage lui-même. ,

LES DIFFÉRENTES OPÉRATIONS DU DOSAGE : HÉMOLYSE,
DÉFÉCATION, FILTRATION, ADJONCTION DES SOLUTIONS
DE NITROPRUSSATE ET DE CYANURE

Ces opérations, correctement faites, ne sont pas causes d'erreurs. Nous avons presque toujours trouvé le même résultat pour un sang donné, en cas de répétition du dosage.

LECTURE AU SPECTROPHOTOMÈTRE

C'est là la principale cause d'erreur. Le complexe GSH-nitroprussiate n'est que modérément stabilisé par le cyanure et sa coloration varie avec le temps : au bout d'une minute, la densité optique a diminué de 3 %, au bout de deux minutes de 4 %, au bout de cinq minutes de 9 à 15 %. La lecture doit être faite dans les 30 secondes qui suivent l'adjonction du cyanure. La cuve, propre au départ, risque d'être souillée par du produit, lorsqu'on la retourne pour rendre homogène la coloration du mélange juste avant la lecture.

CONCLUSION

Nos résultats sont donnés avec un pourcentage d'erreur de 3 % environ, pour le dosage du GSH, ce pourcentage d'erreur est beaucoup plus élevé pour un dosage fait après incubation ; il peut atteindre 15 % mais comme nous l'avons vu, cela ne gêne pas, en général, l'interprétation du résultat du test de stabilité du GSH. Nous avons utilisé la méthode à l'alloxane chez 24 sujets (sans recherche de l'instabilité). Avec la méthode au nitroprussiate, nous avons recherché l'instabilité du GSH chez 147 sujets et fait le dosage du GSH avant incubation avec l'A.P.H. chez 128.

CHAPITRE II

Etude de sujets en bonne santé

INFLUENCE DE L'AGE

SANG DE CORDON OMBILICAL

Méthode à l'alloxane

Nom	Naissance	GSH mg/100 ml
Lib...	normale	94,40
Grand...	"	76,70
Cic...	"	107,69
Cav...	"	93,49

Taux moyen (4 cas): 93,07 mg/100 ml d'hématies.

Méthode au nitroprussiate

Nom	Naissance	GSH mg/100 ml	
		avant incubation avec l'A.P.H.	après incubation avec l'A.P.H.
Cont...	normale	93,75	83,48
Br...	"	86,32	83,49
Vit...	"	91,10	88,98
Lat...	"	95,82	91,20
Gran...	par césarienne	89,56	66,48
Did...	"	83,05	80,51

Taux moyen (6 cas) 89,93 82,35

Le taux de GSH, après incubation avec l'A.P.H., est le même, que le sang ait été prélevé sur héparine ou sur A.C.D.

Le taux moyen, trouvé ici, est légèrement supérieur à celui donné par SZEINBERG [271 - 302] : $79,7 \pm 13,1$ mg/100 ml d'hématies.

NOUVEAU-NÉS DE MOINS DE 72 HEURES

Dosage du GSH

Méthode au nitroprussiate

Nom	Sexe	Age (en heures)	Poids	GSH mg/100 ml
Arn..	M	1	3 100	104,16
Rob..	F	17	1 900	97,59
Sad..	F	21	2 730	85,12
Pur..	M	27	1 950	85,77
Sim..	M	32	2 400	85,00
Poir.	M	41	3 100	94,80
Lat..	M	62	3 200	79,16
Bac..	M	63	3 400	84,21
Chev.	F	65	3 450	100

Taux moyen: prématurés (3 cas) 89,45

nouveau-nés à terme (6 cas) ... 91,24

Ces taux moyens sont légèrement supérieurs à ceux donnés par ZINKHAM [302].

pour les nouveau-nés de moins de 12 heures :

$77 \text{ mg} \pm 15,6$ (avec des chiffres extrêmes de 60 - 109),

pour des nouveau-nés de 12 à 24 heures :

$81,6 \text{ mg} \pm 14,3$ (avec des chiffres extrêmes de 60 - 109).

Test de stabilité du GSH

Les résultats varient suivant l'anticoagulant utilisé. *En prélevant le sang sur héparine*, chez quatre nouveau-nés normaux, âgés de moins de 72 heures, nous avons trouvé une instabilité de GSH dans

trois cas. Cette instabilité est transitoire: elle disparaît, passé l'âge de 7 jours. Elle n'existe pas dans le sang du cordon.

Nom	Sexe	Age (en heures)	Poids	G S H	
				avant A. P. H.	après A. P. H.
Pur.	M	27	1 950	85,77	17,24
Sim.	M	32	2 400	85,00	68,50
Poir.	M	41	3 100	94,80	14,00
Bac.	M	63	3 400	84,21	12,73
Gran.	F	cordon	3 200	89,56	66,78
Did.	M	cordon	3 300	83,05	80,51

Si l'on adopte la classification de BEUTLER, trois de nos nouveau-nés se comportent comme des sujets « hypersensibles » avec un taux de GSH inférieur à 22 mg.

En prélevant le sang sur A.C.D., on ne trouve pas d'instabilité transitoire néonatale.

Nous l'avons constaté chez 8 nouveau-nés parmi lesquels se trouvaient les enfants Poir... et Bac...; chez ces derniers, le sang a été prélevé au même moment sur A.C.D. et sur héparine, l'instabilité du GSH n'existait que dans le sang prélevé sur héparine.

Nom	Sexe	Age (en heures)	Poids	G S H		
				avant A. P. H.	après A. P. H.	sang prélevé sur héparine
Arn.	M	1	3 100	104,16	88,88	
Rob.	F	17	1 900	97,59	82,69	
Sad.	F	21	2 730	85,12	73,81	
Sim.	M	32	2 400	85,00	74,44	68,50
Lat.	M	62	3 200	79,16	67,50	
Chev.	F	65	3 450	100	98,91	
Poir.	M	41	3 100	94,80	82,19	14,00
Bac.	M	63	3 400	84,21	67,45	12,73

En faisant sur héparine des tests de stabilité chez quatre adultes et trois enfants, nous avons vérifié que cet anticoagulant n'était pas responsable de l'instabilité transitoire.

L'instabilité transitoire du GSH est donc une caractéristique du sang du nouveau-né, prélevé sur héparine; elle n'est pas retrouvée si le sang est prélevé sur un anticoagulant enrichi en sucre.

NOURRISSONS AGÉS DE 72 HEURES A 1 MOIS

Méthode au nitroprussiate

	Nom	Sexe	Age (en jours)	Poids de naissance	GSH mg/100 ml	
					avant A.P.H.	après A.P.H.
prenaturés	Rob.	M	4	1 900	77,44	66,00
	Col.	M	7	1 480	75,29	53,24
	Col.	F	7	1 960	81,52	74,72
	Sav.	M	14	2 180	79,51	62,23
	Tail.	M	31	1 980	87,39	71,26
	Taux moyen (5 cas) :				80,29	65,49
à terme	Fran.	F	5	3 150	70,33	70,68
	Dieb.	F	11	3 100	78,76	66,00
	Sig.	M	13	3 200	80,38	71,29
	Pier.	M	18	3 800	82,97	86,29
	Pon.	M	18	3 100	71,80	62,45
	Et.	F	30	3 800	83,22	56,07
	Taux moyen (6 cas)				77,91	68,80

NOURRISSONS AGÉS DE 1 MOIS A 2 ANS

Méthode au nitroprussiate

Nom	Sexe	Age (en mois)	GSH mg/100 ml	
			avant A.P.H.	après A.P.H.
Ra.	M	8	80	70,20
Cham.	M	16	81,29	88,11
Lap.	M	16	73,47	62,05
Laur.	F	17	71,26	64,53
Grand.	F	17	68,00	65,15
Ba.	F	22	61,12	60,85
Cor.	M	23	67,15	69,57
Taux moyen (7 cas)			71,75	68,63

ENFANTS

Méthode au nitroprussiate

Nom	Sexe	Age (en années)	GSH mg/100 ml	
			avant A.P.H.	après A.P.H.
Randz.	M	5	69,57	71,39
Jean.	M	13	81,57	71,24
Taux moyen			75,57	71,32

ADULTES

Méthode à l'alloxane

Nom	Sexe	Diagnostic	GSH mg/100 ml
Gre.	M	donneur de sang	72,28
Lam.	M	" "	54,68
Cle.	M	" "	63,77
Gril.	F	" "	73,22
Tous.	M	" "	66,24
Chre.	F	" "	80,62
Abd.	M	" "	61,03
Meh.	F	" "	62,49
The.	F	" "	78,75
The.	M	" "	80,47
Hum.	M	" "	71,01
Bau.	F	" "	83,91
Grel.	M	" "	70,68
Fav.	F	" "	78,12
Taux moyen			71,23

Méthode au nitroprussiate

Nom	Sexe	Diagnostic	GSH mg/100 ml	
			avant A.P.H.	après A.P.H.
Tour.	M	Donneur de sang	66,7	66,7
Scha.	F	" "	66,2	63,98
Am.	M	" "	75,02	67,76
Vill.	M	" "	59,85	60,89
Sibe.	M	" "	65,61	57,00
Pha.	M	" "	63,33	52,52
Mi.	M	Père d'une enfant ayant une anémie congénitale	68,30	52,16
Sarde	M	Donneur de sang	64,29	55,18
"	M	" "	70,40	66,31
"	M	" "	75,15	68,64
"	M	" "	75,15	74,70
"	M	" "	65,46	66,94
"	M	" "	66,03	70,25
"	M	" "	55,95	63,39
"	M	" "	61,18	63,35
"	M	" "	64,09	69,42
Sal. père	M	Famille de favique sarde	75,42	75,60
Sal. soeur	F	" "	64,80	66,04
Sal. frère	M	" "	61,73	65,01
Taux moyen (19 cas)			67,04	64,54

Nos taux sont peu différents de ceux trouvés par différents auteurs :

avec la méthode à l'alloxane :

$$74,97 \pm 9,51 \quad \text{BEUTLER [24]}$$

avec la méthode au nitroprussiate :

$$74,67 \pm 10,40 \quad \text{BEUTLER [24]}$$

$$70,4 \pm 13,7 \quad \text{SZEINBERG [270 - 271]}$$

L'incubation avec l'A.P.H. ne modifie le taux moyen que de 2,5 mg. Le taux de GSH reste, de toutes façons, très au-dessus des 35 mg/100 ml d'hématies, exigés par BEUTLER pour affirmer l'instabilité du GSH.

INFLUENCE DU SEXE

Nous ne l'avons recherchée que pour les dosages faits avec la méthode à l'alloxane, chez des adultes, en bonne santé, donneurs de sang.

8 donneurs de sang de sexe masculin, taux moyen 67,77

6 donneurs de sang de sexe féminin, taux moyen 76,18

INFLUENCE DE L'ORIGINE RACIALE

ETUDE DE TRAVAILLEURS, ORIGINAIRES DE SARDAIGNE
ÉMIGRÉS EN LORRAINE

Donneurs de sang

Lors de collectes de sang dans les usines de Lorraine, l'équipe du Centre de Transfusion de Metz (Directeur : Docteur B. NOEL) a recherché l'origine raciale des donneurs. On a pu ainsi sélectionner 32 Sardes, de sexe masculin, et rechercher la stabilité de leur GSH :

1 avait fait une crise de favisme dans son enfance ; son GSH était diminué avant incubation (47,58 mg %) et chutait à 14,36 mg % après incubation, permettant de le classer comme un sujet « hypersensible ».

4 appartenaient à des familles de faviques :

1 est « hypersensible »

1 est « intermédiaire »

2 sont normaux

avec des taux subnormaux avant incubation.

Sur les 27 restants sans histoire familiale, 1 est « intermédiaire », avec un taux subnormal avant incubation.

On arrive ainsi au pourcentage de 12,5 % de sujets porteurs du déficit enzymatique, ce qui correspond au pourcentage moyen trouvé en Sardaigne, dans la population masculine.

Numéro du donneur	Signes particuliers	GSH mg/100 ml	
		avant A.R.H.	après A.R.H.
1		64,29	55,18
2		70,40	66,31
3		75,15	68,64
4		75,15	74,70
5		65,46	66,94
6		66,03	70,25
7		55,95	63,39
8		61,18	63,35
9		64,09	69,42
10	Favique ; étourdisse- ment par odeur de fleurs	47,58	<u>14,36</u>
11	Frère allergique à odeur de fleurs		71,38
12			75,00
13			81,06
14			67,47
15			72,9
16			65,46
17			66,75
18	Fille favique	74,63	<u>14,46</u>
19			65,34
20			66,53
21			55,62
22			55,33
23			64,29
24			54,43
25			67,21
26		59,45	<u>32,57</u>
27			73,87
28	Frère allergique odeurs de fleurs	59,73	<u>24,80</u>
29			65,42
30			59,01
31			74,95
32	Petite soeur favique		60,75

Parents sains de sujets malades étudiés

Nom	Maladie d'un parent	GSH mg/100 ml	
		avant A.P.H.	après A.P.H.
SAL. Mère	Favisme	60,75	46,68
Père	"	75,42	75,60
Soeur	"	64,80	66,04
Frère	"	61,73	65,01
MOG. Mère	Méthémoglobinémie congénitale	75,33	48,60
Père	" "	70,49	16,83
Frère	" "	45,22	3,65
Frère	" "	33,15	6,63
Oncle	" "	48,26	22,78
patern.			

Parmi ces 9 parents, 4 ont une instabilité du GSH et 2 sont vraisemblablement porteurs de la tare, avec une expressivité atténuée : il s'agit des mères des enfants étudiés ; le taux de leur GSH sanguin diminue nettement après incubation, mais reste supérieur à 35 mg.

AUTRES NATIONALITÉS

Nous n'avons pas retrouvé de cas d'instabilité chez des sujets appartenant à d'autres races.

En plus des Français, nous avons étudié des Nord-Africains, des Italiens originaires d'autres régions que la Sardaigne, des Portugais, des métis.

CONCLUSION

Le nombre, restreint, des sujets étudiés, ne nous permettrait pas de donner des résultats, statistiquement valables, s'ils n'étaient corroborés par ceux des auteurs qui ont pratiqué les mêmes recherches.

Le taux de GSH n'est pas une constante sanguine absolue, il varie, dans de très larges limites, chez les individus normaux, et même chez un individu donné, lors de prélèvements successifs. Si chez l'adulte, nous avons trouvé avec la méthode au nitroprussiate un taux moyen de 67,04 mg/100 ml d'hématies, nous avons constaté dans notre série de 19 dosages des chiffres allant de 55,95 à 75,42. Il en a été de même, avec la méthode à l'alloxane, qui nous a donné un taux moyen de 71,23 mg/100 ml d'hématies avec des chiffres allant de 54,68 à 83,91.

Ces variations n'ont pas une importance primordiale dans notre étude, où nous nous intéressons surtout à la stabilité du GSH. Même si l'on prend les taux de GSH, les plus bas, trouvés chez les sujets normaux, ils sont largement supérieurs à ceux exigés par BEUTLER, dans son test de stabilité, pour diagnostiquer l'enzymopénie.

La méthode que nous avons utilisée est donc très valable.

CHAPITRE III

Etude de sujets pathologiques

ANEMIES

Anémies hémolytiques d'origine végétale

FAVISME

L'enfant S... Antoine, âgé de 7 ans, est hospitalisé le 5 juillet 1961, dans un état grave, au service de médecine infantile de Metz (Docteur ALLIMANT). Somnolent, ne répondant que par monosyllabes, il est porteur d'un ictère intense, intéressant l'ensemble des téguments mais ayant un aspect légèrement cireux, du fait de l'anémie coexistante. Le foie déborde les fausses côtes de 4 travers de doigt, la rate de 3. Les urines sont foncées, hémoglobinuriques, les selles normales. Le diagnostic d'ictère hémolytique avec hémoglobinurie est rapidement fait.

Hémogramme : 1 500 000 hématies, valeur globulaire 1,02 ; 27 300 leucocytes (formule normale). Anisocytose, anisochromie, polychromatophilie, quelques hématies ponctuées, érythroblastes 3 % des éléments nucléés.

Les corps de Heinz n'ont été recherchés que le 24 juillet et n'ont pas été trouvés.

Myélogramme : érythroblastose réactionnelle.

Bilirubine : non conjuguée 6,4 mg %, conjuguée 2,8 %.

Urines : quelques hématies, rares cylindres hématiques, albumine 3,50 g, présence d'hémoglobine (réaction pseudoperoxydasique et précipitation sulfosalicylique positives).

Bilan immunologique négatif : test de Coombs direct, test de Crosby, recherches d'agglutinines froides, en milieu salin et albumineux.

Résistance globulaire aux solutions hypotoniques: 5,3 o/oo — 3,48 o/oo; aux agents mécanique et acide: normales.

Recherches d'une hémoglobine anormale: Electrophorèse sur gel d'amidon: normale; Test de Singer: 4 % d'hémoglobine fœtale.

L'interrogatoire ne retrouve pas d'autres épisodes hémolytiques, pas de prise de médicaments, mais révèle que l'enfant a mangé des fèves crues et d'autres cuites le 1^{er} juillet. Le 2, il s'est plaint de céphalées et de faiblesse des membres inférieurs. Le tableau s'est peu à peu complété et l'enfant a été hospitalisé le 5.

La famille est originaire de Sardaigne et un grand-père maternel a présenté des crises de favisme. Son petit-fils, Antoine, est atteint de la même affection.

Après 2 transfusions correspondant à 600 cc de sang, l'enfant sort guéri le 28 juillet, l'hépatosplénomégalie a disparu, l'hémo-gramme est à 4 000 000.

Recherche de l'instabilité du GSH chez l'enfant et sa famille

	GSH en mg/100 ml	
	avant A.P.H.	après A.P.H.
Antoine le 11 juillet	73,72	40,22
" le 24 juillet.	65,22	38,36
" le 6 sept.	62,57	<u>17,01</u>
Mère	60,75	46,68
Père	75,42	75,60
Soeur	64,80	66,04
Frère	61,73	65,01

Il est classique de trouver le GSH stable dans les jours qui suivent l'hémolyse, du fait de la destruction des hématies enzymopéniques et de l'existence d'hématies normales transfusées. Ici, il existe une instabilité relative, mais sans chute au-dessous de 35 mg/100 ml, ce qui interdit de considérer l'enfant comme « sensible ». 2 mois après l'épisode hémolytique, l'instabilité est nette et l'enfant peut être affirmé « hypersensible » et enzymopénique.

On retrouve chez la mère une instabilité relative mais sans chute au-dessous de 35 mg, ce qui peut s'expliquer par une expressivité diminuée.

Autres recherches pratiquées

Parmi les hémogrammes des autres membres de la famille, seul celui du frère présente quelques anomalies: anisocytose, poïkilocytose, quelques microcytes. Il n'existe ni réticulocytose, ni granulations basophiles, ni corps de Heinz.

Intradermo-réactions aux extraits alcooliques ou étherés de fèves: négatives.

Origine de la famille S.

Depuis plusieurs générations, les membres de la famille S. habitent un petit village de la côte Est de la Sardaigne: Suni (province de Nuoro). Les habitants de ce village, situé au niveau de la mer et où le paludisme était à l'état endémique, ont été étudiés par SINISCALCO et MOTULSKY [253] lors de leur enquête en Sardaigne: 14 % sont porteurs du déficit en G. 6P.D., 25 % du trait thalassémique.

INTOXICATION PAR LES FAUSSES MORILLES

(Gyromitra Esculenta)

Enfant BEUR..., garçon de 4 ans, sans antécédent pathologique. Absorption de fausses morilles, cuites, le 12 et le 13. Début des troubles le 13 au soir: vomissements, qui continuent le 14 et le 15; à l'entrée on constate: enfant subcomateux, agité, ictère conjonctival, subictère cutané, deshydratation discrète, urines normales. 3 850 000 hématies, 13 000 leucocytes.

Bilirubine non conjuguée 5 mg %, conjuguée 2,4 mg %.

Urée 0,82 g. Tests hépatiques normaux.

Urines: ni sels, ni pigments biliaires.

Guérison rapide après réhydratation, hémisuccinate d'hydrocortisone et arginine en perfusion intra-veineuse.

Pas d'instabilité du GSH.

GSH avant A.P.H. = 59,37 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 60,18 mg/100 ml d'hématies

Anémies aiguës d'étiologie connue

	Age	GSH en mg/100 ml	
		avant A.P.H.	après A.P.H.
Arn. (iso-immunisation Rh)	1 heure	104, 16	88, 88
Chev. (iso-immunisation ABO)	65 h.	100	98, 91
Pet. (leucose à basophiles-mongol)	14 mois	73, 23	68, 87
Chart. (lymphosarcomatose)	6 ans	64, 34	55, 23

Pas d'instabilité du G.S.H.

Anémies aiguës d'étiologie inconnue

PRÉMATURÉ

VIL..., sexe féminin, 2 400 g, origine italienne (Venise). Ictère hémolytique à 42 jours. Hépatomégalie 2 travers de doigt, 3 850 000 hématies, bilirubine non conjuguée, 10,1 mg %, test de Coombs négatif. Hémoglobine F : 62 %. Résistance globulaire aux solutions hypotoniques : 4 p. 1000, 3 p. 1000.

Vu l'âge, il est impossible de savoir s'il s'agit de la première manifestation d'une thalassémie majeure. Il n'a pas été possible de faire une enquête familiale.

Il n'y a pas eu d'injection de Vitamine K₂.

Pas d'instabilité du GSH :

GSH avant incubation avec l'A.P.H. = 119,18 mg/100

GSH après incubation avec l'A.P.H. = 82,27 mg/100

NOUVEAU-NÉ A TERME

RA..., de sexe masculin, père Marocain, mère Française. Ictère hémolytique brutal à l'âge de 16 jours, avec hépatosplénomégalie, 1 200 000 hématies, 34 g d'hémoglobine p. 1 000.

Transfusion de 100 cc de sang. 9 jours plus tard, disparition de tous les signes cliniques, bilirubine libre : 0,6 mg %, conjuguée : 2 mg % mais persistance de l'anémie : 2 500 000 hématies. Nouvelle transfusion. L'enfant sort à 1 mois 8 jours et fait une toxicose ; il reçoit à nouveau 100 cc de sang.

Revu à l'âge de 7 mois, il a un développement normal, n'est plus anémique, mais présente toujours une splénomégalie minime.

Pas d'instabilité du GSH :

à 28 jours :

GSH avant A.P.H. = 44,73 mg/100 ml

GSH après A.P.H. = 36,60 mg/100 ml

à 7 mois :

GSH avant A.P.H. = 80,00 mg/100 ml

GSH après A.P.H. = 70,20 mg/100 ml

Anémies hémolytiques congénitales

MALADIE DE MINKOWSKI CHAUFFARD

	<u>GSH</u>	
	avant A. P. H.	après A. P. H.
Nod...	60,24	56,45
Sant..	77,10	52,70
Mat...	69,37	68,57
Gran...	56,56	58,59
Freih...	49,21	39,53

Pas d'instabilité du G.S.H.

Nous avons obtenu avec le sang de FREIH... *un test de corps de Heins positif* (Docteur PETERS, Docteur WORMS, Laboratoire Central, Service du Professeur de Lavergne): après incubation avec de l'A.P.H., 50 % des hématies contenaient plus de 5 corps de Heinz. Il n'en existait pas avant incubation. Cela nous confirme que le test des corps de Heinz de BEUTLER se révèle positif dans d'autres hémopathies que les anémies hémolytiques enzymopéniques.

HÉMOGLOBINOSES - THALASSÉMIE MAJEURE

Nom	Sexe	Maladie	Origine	GSH mg/100ml	
				avant A.P.H.	après A.P.H.
Fa... père mère oncle	M	Cooley	Sicile	118,23	96,11
		trait thal.		93,17	82,88
		"		94,60	73,16
		"		81,75	70,83
Mal...A J père mère frère	F	Cooley	Pouilles	78,65	53,24
	F	Cooley		62,74	41,23
				66,00	58,30
				76,75	62,23
		trait thal.		61,00	64,48
Mar... père mère	F	Cooley	Italie	70,68	63,10
				63,54	76,25
				66,81	75,52
Ar...	M	Cooley	Sardaigne	83,47	51,37
Pel...	F	Cooley	Calabre (père) Rome (mère)	57,79	64,21
Nov...	M	Cooley	Pouilles	97,60	92,72
Dev...	M	Cooley	France (Hte Saône)	86,72	48,40

Nous avons pratiqué le test de stabilité du GSH chez 8 enfants, atteints de maladie de Cooley, appartenant à 7 familles et chez certains de leurs parents, porteurs ou non du trait thalassémique.

Nous n'avons pas trouvé de cas d'instabilité du GSH. Les taux de GSH avant incubation sont élevés chez les enfants atteints de maladie de Cooley; ceci est dû au fait que les dosages ont été faits en pleine poussée hémolytique. Il en résulte un rajeunissement de la population sanguine et l'on sait que les hématies jeunes ont un taux de GSH et de G. 6P.D. plus élevés que les hématies âgées.

ELLIPTOCYTOSE

Enfant PASC... (famille originaire de Mantoue en Italie).

GSH stable: 79,45 mg/100 ml avant A.P.H.

90,57 mg/100 ml après A.P.H.

HÉMOGLOBINURIE PAROXISTIQUE A FRIGORE

Enfant NIC...

GSH stable: 52,56 mg/100 ml avant A.P.H.

66,57 mg/100 ml après A.P.H.

ANÉMIES HÉMOLYTIQUES CONGÉNITALES NON SPHÉROCYTAIRES

Enfants

CHAK... Tedja: père nord-africain, mère française. Ictère depuis son plus jeune âge (on l'appelait dans sa famille « la petite chinoise »). Hospitalisée à l'âge de 6 ans et demi en septembre 1959 et suivie depuis. Anémie hémolytique à 2 760 000 hématies, avec macrocytose, anisocytose, anisochromie, érythroblastose, réticulocytose (5 %), hématies en cible. Résistance globulaire 5-3 o/oo. Hémoglobine normale (test de Singer, électrophorèse sur gel d'amidon). A l'entrée, hépatosplénomégalie qui régresse après transfusion. La ponction-biopsie de foie montre des granulations pigmentaires, brunnâtres, qui n'ont pas les caractères de la bile ou de l'hemosidérine, dans les cellules de Kupfer et dans quelques hépatocytes. L'exploration par le chrome radio-actif montre une durée de vie raccourcie et une séquestration splénique. Il n'existe qu'une seule population d'hématies.

Test des corps de Heinz positif (50 %).

Test de stabilité du GSH normal:

GSH avant incubation: 64,53 mg/100 ml d'hématies

GSH après incubation: 54,67 mg/100 ml d'hématies

Pendant 2 ans, l'enfant a fait régulièrement des poussées de déglobulisation nécessitant une transfusion toutes les 6 semaines environ. Les urines sont plus ou moins foncées en permanence, mais on n'y a isolé aucun pigment anormal.

MIN... Marie-Thérèse: suivie depuis juillet 1957 (à l'âge de 17 jours) jusqu'à maintenant. Parents Italiens (originaires de Calabre). Première poussée anémique à l'âge de 12 jours, sans ictère. 1 850 000 hématies. Depuis, elle fait 4 fois par an des poussées hémolytiques avec urine pigmentée, notamment à l'occasion de rhinopharyngites. Pas de splénomégalie jusqu'en 1961, splénomégalie modérée actuellement.

Bilirubinémie non conjuguée oscillant entre 5,7 mg % et 1,6 mg %.

Réticulocytose très importante allant jusqu'à 85 %.

Macrocytose (9 μ de diamètre). Macrocytose et mégaloctose médullaire. *Hématies à granulations basophiles très nombreuses*. Résistance globulaire normale. Hémoglobine normale. Bilan immunologique négatif.

Urines: présence abondante de coproporphyrine.

Test des corps de Heinz très positif (80 %).

Test de stabilité du GSH normal.

Cette anémie macrocytaire ressemble au type 2 de Dacie, mais les épreuves spécifiques n'ont pas été pratiquées.

Le père est normal, la mère n'a pas d'anémie mais une réticulocytose (4 à 6 %) et une érythroblastose (9 %); un frère âgé de 9 mois est porteur d'une importante splénomégalie mais n'a pas pu être étudié.

	GSH mg/100 ml	
	avant A.P.H.	après A.P.H.
MIN... M.T.		
juillet 1960	35,59	{ 33,29
octobre 1960	44,84	{ 38,43
		39,15
Père	68,30	52,16
Mère	59,92	64,86

BAS... Dominique. Ce garçon, né en octobre 1954, est suivi régulièrement dans notre service depuis l'âge de 10 mois pour une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire qui a les caractères suivants: première manifestation à l'âge de 2 mois: ictère hémolytique avec splénomégalie. Splénectomie inefficace à l'âge de un an. Anémie aux environs de 3 000 000 d'hématies, avec signes de régénération, macrocytose nette sanguine ($9\ \mu$) et médullaire.

Réticulocytose 6 à 12 %. Bilirubinémie non conjuguée: 1 à 2,3 mg %. Résistance globulaire aux solutions hypotoniques variables suivant les examens: 4,5 p. 1000 - 3,5 p. 1000; 6,56 - 3,48; 4 - 3; 5 - 3.

Hémoglobine normale (test de Singer, électrophorèse sur gel d'amidon). Bilan immunologique toujours négatif.

Plusieurs membres de sa famille présentent des anomalies identiques de la résistance globulaire et une tendance à la macrocytose, sans anémie.

Pas d'instabilité du GSH.

GSH avant A.P.H. = 64,04 mgr/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 56,46 mgr/100 ml d'hématies

LYS... Frère et sœur. Le Docteur BLANC, qui a rapporté leurs observations dans sa thèse [28], nous avait demandé de rechercher chez le garçon et deux de ses ascendants, l'instabilité du GSH. Notre recherche a été négative.

	GSH en mgr / 100 ml d'hématies	
	avant A.P.H.	après A.P.H.
LYS..... Frère	62,45	53,08
Père	67,22	55,93
Grand'mère	68,39	61,11

Il s'agissait de deux enfants d'origine polonaise, suivis depuis 1954 à la Clinique Médicale Infantile de la Faculté libre de Médecine de Lille (Professeur FOURNIER). Ils étaient porteurs d'une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire de *type I de Dacie*.

La sœur a été hospitalisée pour la première fois à l'âge de 3 ans avec les signes suivants: anémie (1 800 000 hématies), rate dé-

bordant de trois travers de doigt le rebord costal, réticulocytose (3 %), signes de régénération; diamètre moyen des hématies 8 μ . Résistance globulaire aux solutions hypotoniques: 4,6 p. 1000 - 3,2 p. 1000, bilirubine non conjuguée: 16 mg %, érythroblastose médullaire.

De l'âge de 3 ans à celui de 8 ans, elle a fait des crises hémolytiques modérées, tous les six mois environ.

Réhospitalisée à l'âge de 8 ans, à l'occasion d'une de ces crises, elle était normalement développée, avait une splénomégalie modérée et le bilan hématologique suivant: 3 180 000 hématies; réticulocytose 8,3 %; résistance globulaire normale; bilirubine non conjuguée 8,5 mg %; bilan immunologique, test de Singer négatifs.

Le frère a été hospitalisé pour les mêmes raisons, à l'âge de 5 mois, et son bilan hématologique était identique à celui qui avait été trouvé pour sa sœur, à l'âge de 3 ans. Depuis lors, il a fait des crises hémolytiques beaucoup moins intenses que sa sœur et à l'âge de six ans, on notait qu'il était en bon état général, avait une rate palpable, un hémogramme montrant 4 270 000 hématies avec 3,66 % de réticulocytes, et une bilirubine non conjuguée à 1 mg %. Les épreuves de Dacie pratiquées sur le sang des deux enfants les classaient dans le type I.

Adultes

En 1961, nous avons recherché une instabilité du GSH chez 2 malades, hospitalisés dans le service du Professeur KISSEL. Cette recherche a été négative.

VOIN..., homme âgé de 46 ans. Anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire, avec ictère depuis l'enfance, splénomégalie, dystrophie crânienne très accentuée (épaississement de la diploë de 2 cm, poils de brosse, oxycéphalie). Troubles psychiques, ayant nécessité un internement depuis l'âge de 40 ans.

2 900 000 hématies. Réticulocytose 6 à 15 %. Autohémolyse classant cette anémie dans le *type II de Dacie*. Etude avec des hématies marquées au Cr⁵¹: durée de vie raccourcie et insuffisance médullaire relative, séquestration splénique.

Test de stabilité du GSH: négatif.

GSH avant A.P.H. = 64,00 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 52,80 mg/100 ml d'hématies

Une splénectomie est pratiquée. Décès post-opératoire.

La sœur du malade présenterait la même dystrophie crânienne et des poussées de déglobulisation.

KEND..., homme âgé de 26 ans. Nord-africain. Ictère hémolytique chronique, modéré, confirmé par une étude avec des hématies marquées au Cr⁵¹. Splénomégalie discrète.

Bilirubine non conjuguée: 3,4 à 5,7 mg %.

Test de stabilité du GSH: négatif.

GSH avant A.P.H. = 62,83 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 54,29 mg/100 ml d'hématies

CONCLUSION

Nos 7 observations d'anémies hémolytiques congénitales non sphérocytaires ne sont pas dues au déficit en G. 6P.D. et leur étiologie reste mystérieuse. Cela confirme d'une part la fréquence relative de cette hémopathie et d'autre part la multiplicité de ses étiologies.

Anémie de Blackfan-Diamond

CEP..., sexe masculin, 13 mois. Anémie de révélation brutale mais de type hypoplastique 1 100 000 hématies. Réticulocytes 1 %, Héoglobine 2,9 %. Myélogramme: erythroblastose discrète. Bilirubine conjuguée 1,1 %. L'enfant reçoit 350 cc de sang et un traitement martial intensif. 3 mois plus tard l'anémie s'est reproduite et le bilan hématologique est identique. Le diagnostic d'anémie de Blackfan-Diamond est le plus vraisemblable.

Pas d'instabilité du GSH:

GSH après A.P.H. = 73,20 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 78,08 mg/100 ml d'hématies

Anémies ferriprives

NOURRISSONS

BID..., sexe masculin, 12 mois. Anémie hypochrome chez un nourrisson mal nourri, rachitique. Splénomégalie minime. 2 800 000 hématies. Hémoglobine 14 g p. 1000.

Pas d'instabilité du GSH:

GSH avant A.P.H. = 98,15 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 102,90 mg/100 ml d'hématies

ADULTES

ROS..., femme de 30 ans, hospitalisée au service du Professeur KISSEL. Diagnostic d'anémie ferriprive, confirmé par une exploration au Fe⁵⁹.

Pas d'instabilité du GSH :

GSH avant A.P.H. = 65,82 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 66,39 mg/100 ml d'hématies

RERG..., homme de 19 ans, Nord-Africain, hospitalisé au service du Professeur MICHON. Le raccourcissement de la durée de vie des hématies a été démontré par une exploration au Cr⁵¹.

Pas d'instabilité du GSH :

GSH avant A.P.H. = 69,44 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 76,28 mg/100 ml d'hématies

Pancytopenies

DEPA..., Italien de 19 ans, hospitalisé au service du Professeur MICHON.

Pas d'instabilité du GSH :

GSH avant A.P.H. = 36,60 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 43,92 mg/100 ml d'hématies

ICTERES NEONATAUX

(de diagnostic difficile)

PRÉMATURÉS

SCHM...: Ictère par immaturité hépatique (?). Prématuro de sexe masculin, 2 260 g. Accouchement difficile. Réanimation. Mœlena à la 48^e heure traité par 2 injections d'une ampoule de K-thrombyl. Hospitalisé quelques heures plus tard avec un ictère intense. Bilirubine non conjuguée : 16 mg % ; conjuguée : 1,2 mg %. 6 000 000 d'hématies. Pas d'iso-immunisation. Disparition de l'ictère et guérison, dans les jours suivants, sans exsanguino-transfusion.

L'ictère, qui serait apparu le 2^e jour, avant les injections de vitamine K₂, n'a donc pas été aggravé par celles-ci. Il s'agissait, vraisemblablement, d'un ictère par immaturité hépatique chez un prématuré.

Il n'existait pas d'instabilité du GSH.

GSH avant A.P.H. = 73,66 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 78,26 mg/100 ml d'hématies

HOF..., syndrome de bile épaisse (?). Prématuro, de sexe masculin, 1 600 g. Ictère le 3^e jour, qui disparaît en quelques jours mais

réapparaît le 56^e jour. On constate alors : ictère intense, hépatosplénomégalie, anémie à 2 940 000. Bilirubine non conjuguée : 5,4 mg %, conjuguée : 7,5 mg %.

Décès à 77 jours. L'autopsie montre un foie cholostatique sans malformation des voies biliaires et une coarctation de l'aorte.

Il n'existait pas d'instabilité du GSH :

GSH avant A.P.H. = 42,09 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 36,60 mg/100 ml d'hématies

NOUVEAU-NÉS A TERME

PIER... : *Ictère physiologique intense* (?), 3 300 gr., sexe masculin. Ictère intense apparu le 1^{er} jour. Foie et rate normaux. Pas d'atteinte neurologique. Bilirubine non conjuguée : 19,4 mg %, conjuguée : 0,8 mg %. Pas d'anémie. Pas d'iso-immunisation. Guérison rapide, sans exsanguinotransfusion.

Il n'existait pas d'instabilité du GSH :

GSH avant A.P.H. = 82,97 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 86,29 mg/100 ml d'hématies

LAT..., *Ictère physiologique intense* (?), 3 400 gr., sexe masculin. Ictère très intense apparu le deuxième jour. Hépatomégalie modérée. Examen neurologique normal. Bilirubine non conjuguée : 19,2 mg %, conjuguée : 1,2 mg %. Pas d'anémie. Pas d'iso-immunisation.

Nous n'avons pas trouvé d'instabilité du GSH :

GSH avant A.P.H. = 79,16 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 67,50 mg/100 ml d'hématies

POIR..., *Ictère physiologique intense* (?), 3 100 gr., sexe masculin. Père Nord-Africain. Mère Française. Ictère intense apparu à la 48^e heure. Cyanose. Examen neurologique normal. Pas d'anémie. Pas d'iso-immunisation. Guérison rapide sans exsanguinotransfusion.

Il n'existait pas d'instabilité du GSH :

GSH avant A.P.H. = 94,80 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 82,19 mg/100 ml d'hématies

SIG..., *Ictère d'étiologie inconnue*, 3 200 g., sexe masculin. Apparition le 9^e jour d'ictère intense accompagné de troubles neurologiques discrets et passagers. Bilirubine non conjuguée : 25,2 mg %,

conjuguée: 0,4 mg %. Pas d'anémie. Pas d'iso-immunisation. Pas de myxœdème. Pas de galactosurie. Examens sérologiques de la toxoplasmose négatifs. Guérison sans exsanguinotransfusion.

Il n'existait pas d'instabilité du GSH :

GSH avant A.P.H. = 80,38 mg/100 ml d'hématies

GSH après A.P.H. = 71,29 mg/100 ml d'hématies

L'enfant a été revu à l'âge de 10 mois, il ne présentait aucune séquelle.

METHEMOGLOBINEMIE CONGENITALE

Comme nous le verrons plus loin, il existe des rapports étroits entre le déficit en G. 6P.D. et la méthémoglobémie acquise. Nous avons voulu voir, s'il en était de même, en cas de méthémoglobémie congénitale et nous avons étudié une famille dont deux enfants étaient atteints de cette maladie. Un de ces deux enfants a été trouvé porteur d'un GSH instable, de même que quatre autres membres de cette famille, alors que l'autre enfant avait un GSH normal. Les observations détaillées de ces deux enfants feront l'objet d'un travail spécial (thèse du Docteur STOESSEL), dans lequel seront analysés tous les problèmes posés par la méthémoglobémie congénitale. Nous nous contenterons de les résumer et de discuter quelques points intéressants.

MOG... Antoine a été hospitalisé dans le service du Professeur NEIMANN en 1957, à l'âge de 10 mois, pour une pneumopathie cyanogène. Le diagnostic de méthémoglobémie congénitale fut alors porté, un taux de 42 % de méthémoglobine ayant été trouvé dans le sang de cet enfant. La méthémoglobémie a pu être réduite par des injections intramusculaires de vitamine C après qu'un traitement par bleu de méthylène intraveineux ait échoué.

L'enfant fut perdu de vue et ne put être réexaminé qu'à l'occasion de l'hospitalisation, en 1960, de sa sœur Marie-Thérèse. Sa croissance avait été normale. Il présentait toujours une cyanose modérée, s'accroissant à l'effort. Le taux de méthémoglobine était de 17 %, sans traitement.

MOG... Marie-Thérèse a été hospitalisée à la Clinique Médicale Infantile de l'Hôpital Bonsecours de Metz (Docteur ALLIMANT), en 1960, à l'âge de deux jours, pour bilan d'une cyanose néonatale.

L'examen était normal, le dosage de la méthémoglobine montrait un taux de 43 % à 4 mois et de 28 % à 10 mois. Le traitement

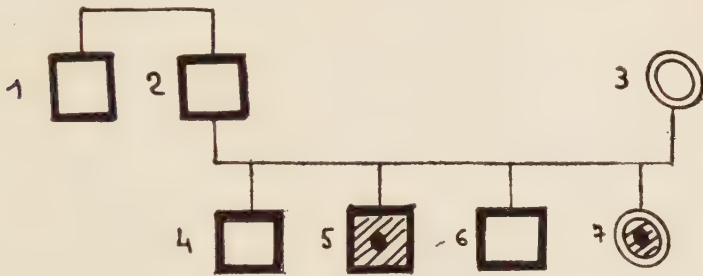
par injections intraveineuses de bleu de méthylène a donné d'excellents résultats, contrairement à ce qui s'était produit pour son frère.

L'enfant est suivie régulièrement depuis lors. Sa croissance est normale, sa cyanose modérée.

Chez les deux enfants, le diagnostic de *méthémoglobinémie congénitale*, par déficit en diaphorase I, a pu être posé, grâce aux dosages pratiqués par le Professeur J.C. DREYFUS (Laboratoire du Professeur SCHAPIRA, Hôpital des Enfants Malades, Paris).

Nous avons reproduit, dans un schéma, l'arbre généalogique de la famille MOG..., composée du père (2), de la mère (3), d'un fils aîné, Sébastien (4), d'Antoine (5), d'un autre fils Salvatore (6), de Marie-Thérèse (7), et d'un oncle paternel (1).

Dans le tableau ci-dessous sont donnés les résultats des examens biologiques faits aux différents membres de cette famille.



Méthémoglobinémie congénitale.



Pas de méthémoglobinémie congénitale.



Glutathion instable.



Glutathion normal.



Trait thalassémique.

Arbre généalogique d'une famille sarde où l'on trouve 3 tares génétiques : trait thalassémique, déficit en glucose 6 phosphate déshydrogénase et méthémoglobinémie congénitale. Les deux premières tares sont particulièrement répandues en Sardaigne.

Tous les sujets de sexe masculin ont un GSH instable: d'après la classification de BEUTLER, le père, Antoine, Sébastien et Salvatore, sont « hypersensibles », et l'oncle est « intermédiaire ».

Le professeur J.C. DREYFUS a confirmé nos résultats chez Antoine, en démontrant, par une méthode de dosage direct de l'enzyme, une absence presque complète de G. 6P.D. Il doit incessamment faire ces mêmes dosages chez les autres membres de la famille.

Sujet	Glutathion en mg/100ml d'hématies		Méthémoglobininémie	Hémoglobine F
	avant incubat. avec 1'A.P.H.	après incubat. avec 1'A.P.H.		
1	48,26	22,78	inférieure à 1%	non recherchée
2	70,49	16,83	"	1,48%
3	75,33	48,60	"	0
4	33,15	6,63	"	0
5	27,30	3,48	42 %	10%
6	45,22	3,65	inférieure à 1%	0
7	75,18	75,18	26 %	6%

Le cas de la mère est un peu particulier: son taux de GSH diminue nettement après incubation, mais reste supérieur à 35 mg %.

D'après la classification de BEUTLER, la mère doit être considérée comme normale, mais il est très vraisemblable qu'elle est en fait heterozygote. Comme nous l'avons vu au chapitre « étiologie », l'expression du gène mutant est diminuée par le gène normal chez les femmes heterozygotes.

La coexistence des trois tares, chez Antoine, est très intéressante. Elle fait poser le problème d'un éventuel rapport de cause à effet, entre le déficit en G. 6P.D. et la méthémoglobininémie congénitale. Rien ne s'y oppose a priori. Le problème n'a été étudié jusqu'ici que pour les méthémoglobininémies acquises.

Au début des recherches sur la « sensibilité à la Primaquine », on a soutenu que l'hémolyse provoquée chez les sujets « sensibles », par certains médicaments, était due à leur pouvoir méthémoglobinisant. La plupart de ces médicaments sont en effet nettement méthémoglobinisants; il en est ainsi des 8 amino-quinoléine (antipaludéens de synthèse) et des dérivés de l'aniline (phénacétine sulfamides, P.A.S.). Les auteurs qui ont rapporté de telles anémies n'ont pas toujours prêté assez d'attention au fait que l'on pouvait en distinguer deux types, suivant la dose de médicaments absorbée: aux doses habituelles, l'hémolyse, chez le sujet « sensi-

ble », ne s'accompagne que d'une méthémoglobinémie minime ; pour des doses plus fortes la méthémoglobinémie devient importante et se traduit cliniquement par une cyanose, mais l'hémolyse reste identique.

Cela a amené BEUTLER à conclure, en 1959, à une indépendance totale entre les pouvoirs méthémoglobinisant et hémolytique. Certains médicaments n'exercent d'ailleurs qu'une de ces actions : la phénylhydrazine est uniquement hémolytique, le nitrite de sodium uniquement méthémoglobinisant. Des épreuves chez des volontaires « sensibles » viennent appuyer cette théorie : le Bleu de méthylène injecté par voie intraveineuse protège contre la méthémoglobinémie, mais non contre l'hémolyse ; le nitrite de sodium provoque une méthémoglobinémie identique, chez le sujet normal et le Noir « sensible ». Il n'est pas hémolytique, bien que le taux de méthémoglobinémie produit soit très supérieur à celui produit par la Primaquine.

Mais en 1960-61, des travaux de HARLEY [126 - 127] et JANDL [136], faits en utilisant des méthodes plus sensibles, ont atténué cette opposition et ont reposé le problème.

Toutes les drogues, qui provoquent une hémolyse chez le sujet enzymopénique, entraînent une augmentation de la méthémoglobinémie. Dans le cas de la primaquine, elle passe inaperçue car la méthémoglobine est immédiatement soit réduite, soit dénaturée en dérivés irréversibles qui donnent les corps de Heinz. La méthémoglobine se forme, en effet, surtout dans les hématies âgées [142 - 143] et ce sont elles qui sont hémolysées car elles ont le déficit en G. 6P.D., au maximum.

Ils ont pu, d'autre part, démontrer que contrairement à ce que pensait BEUTLER, le nitrite de sodium entraînait une méthémoglobinémie plus importante chez les sujets enzymopéniques que chez les sujets normaux.

On sait, aussi, que la réduction de la méthémoglobine se fait mal, in vitro, en présence de bleu de méthylène et de glucose si l'on utilise du sang enzymopénique [126].

Le déficit en G. 6P.D. trouble donc les mécanismes de réduction de la méthémoglobine. Cela se conçoit facilement, puisque celle-ci se fait par l'intermédiaire de deux méthémoglobine-réductases ou diaphorases : la diaphorase I, qui a pour coenzyme DPNH (diphosphopyridine nucléotide réduit) et la diaphorase II qui a pour coenzyme TPNH.

Qu'en résulte-t-il, en cas de méthémoglobinémie congénitale ? Pour le comprendre, il est nécessaire de rappeler, brièvement,

les différentes variétés de méthémoglobinémie congénitale. Il en existe 4, la dernière étant de connaissance très récente [283] :

une d'existence discutable, résultat d'une hyperproduction de substances endogènes oxydantes,

une rare, liée à une hémoglobine anormale « M », amenant la production d'une méthémoglobine pathologique qui n'est pas réduite par le bleu de méthylène, in vivo. In vitro, l'adjonction de plasma normal ne corrige pas ce trouble. Cette méthémoglobinémie se transmet en dominance.

une, plus fréquente, liée à une anomalie héréditaire du système enzymatique de réduction. Elle se transmet en récessivité et est corrigée, in vivo, par l'adjonction intraveineuse de bleu de méthylène. Bien qu'en théorie il puisse y avoir un déficit en diaphorase I ou II, on n'a rapporté, jusqu'ici, que des cas avec déficit en diaphorase I. Nos observations appartiennent à ce type.

une, décrite en 1961, par TOWNES [283], due à une diminution du taux de GSH sanguin, sans instabilité. Dans l'observation qu'il rapporte, le taux de GSH était de 28 mg/100 ml d'hématies. La méthémoglobinémie est réduite par le bleu de méthylène. L'affection se transmet en dominance.

On croyait jusqu'alors que le couple d'oxydo-réduction $GSSG \rightleftharpoons GSH$ n'intervenait pas in vivo dans la réduction de la méthémoglobine, bien qu'il puisse le faire in vitro. L'observation de TOWNES repose le problème.

On peut donc conclure que le déficit en G. 6P.D. ne peut pas, à lui seul, causer la méthémoglobinémie congénitale, mais il l'aggrave. Il prive, en effet, l'hématie de TPNH, coenzyme de la diaphorase II et il entraîne une instabilité du GSH. Le taux du GSH n'est pas suffisamment abaissé, en dehors d'une agression médicamenteuse, pour entraîner une méthémoglobinémie chronique.

Notre observation confirme ces données. Le fait de ne trouver le déficit en G. 6P.D. que chez un seul des deux enfants atteints de méthémoglobinémie congénitale, prouve bien qu'il ne peut y avoir un rapport direct, de cause à effet, entre les deux affections congénitales. Leur coexistence joue cependant un rôle aggravant :

le déficit en G. 6P.D. augmente la méthémoglobinémie et est peut-être responsable de l'inefficacité du traitement par le bleu de méthylène.

en cas d'agression médicamenteuse, agissant par l'intermédiaire du déficit en G. 6P.D., la méthémoglobine produite sera plus difficilement réduite du fait de la méthémoglobinémie congénitale.

La coexistence des tares chez l'enfant Antoine, est due au fait que sa famille est originaire de Sardaigne. La famille MOG... habitait le petit village d'Oranì, situé à 60 km environ de Suni, le vil-

lage d'où est issue la famille SAL... (chez qui nous avons constaté un cas de favisme).

Cette observation est très intéressante pour différentes raisons:

Elle permet de comprendre les rapports existant entre déficit en G. 6P.D. et méthémoglobinémie.

Elle illustre les difficultés que l'on peut rencontrer, dans les pays où le gène est très répandu, pour affirmer la responsabilité du déficit en G. 6P.D. dans une maladie observée.

Elle nous montre, de même que l'observation du petit favique SAL... et l'étude des donneurs de sang sardes, que la recherche du déficit mérite d'être faite dans nos régions, bien que le gène y soit très rare. Nous sommes en effet amenés à traiter des sujets originaires d'Italie; il faut être très prudent lorsqu'on leur prescrit des médicaments et il peut être dangereux de transfuser leur sang à des malades qui risquent de recevoir des drogues que l'enzymopénie rend hémolytiques. Il faut penser chez eux au déficit enzymatique en cas d'anémies hémolytiques aiguës ou congénitales et en cas d'ictères néonataux.

AUTRES CAS ETUDIES

Nous n'avons pas retrouvé d'autres cas d'instabilité du GSH, mais nous avons souvent trouvé des taux de GSH relativement bas, en cas de maladie grave, ce qui est classique.

	GSH mg/100 ml d'hématies	
	avant APH	après APH
<i>Maladies hépatiques</i>		
DAV... (ictère par hépatite)	65,51	56,66
DOIZ... (ictère par rétention) . .	38,10	40,00
PED... (cirrhose méta-ictérique) .	35,88	38,04
<i>Diabète</i>		
LEL... ..	46,36	44,41
BO... ..	68,19	53,81
CU... ..	50,43	42,83
<i>Tuberculose</i>		
JEAN... ..	81,57	71,24
RAN... ..	69,57	71,39
<i>Néphrite chronique</i>		
GUIL... ..	95,87	77,25

CONCLUSION

Les expérimentateurs qui, à la fin de la deuxième guerre mondiale, recherchèrent des antipaludéens de synthèse dont l'emploi ne se compliquait pas d'anémie hémolytique, ne se doutaient pas que leurs travaux seraient à l'origine de la découverte d'une nouvelle erreur congénitale du métabolisme : le déficit en glucose 6-phosphate déshydrogénase.

Cette découverte a ouvert un nouveau chapitre de l'hématologie : celui des anémies hémolytiques enzymopéniques. Il est à cheval sur celui des anémies hémolytiques congénitales et sur celui des anémies hémolytiques acquises. Ces anémies sont, en effet, dues à un trouble congénital intrinsèque de l'hématie, mais ne sont révélées que par l'intervention d'un facteur exogène : médicaments (en plus des antipaludéens, il faut citer les sulfamides, la phénacétine, la vitamine K₂ et le PAS), naphthaline, substances végétales (favisme), microbes ou virus. Parfois cependant, le déficit intrinsèque de l'hématie est suffisant pour réaliser une hémolyse chronique : une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire.

Cette découverte a aussi ouvert un nouveau chapitre de la pathologie néonatale : celui des ictères graves néonataux et des ictères nucléaires secondaires au déficit en G. 6P.D.

Cette erreur congénitale, découverte chez les Noirs Américains, a été retrouvée chez près de cent millions d'individus, appartenant à des races variées. L'importance numérique des sujets atteints a permis de très intéressantes études génétiques et ethnologiques. Certains auteurs ont même proposé de considérer l'enzymopathie comme un nouveau groupe sanguin, mais cela n'est pas possible, l'enzymopathie étant dépourvue de pouvoir antigénique.

Le mode de transmission de l'enzymopathie est presque unique en son genre : lié au sexe et dominant.

Il semble y avoir eu plusieurs foyers de mutations : en Afrique, en Sardaigne et en Orient. Le gène mutant a pu se répandre dans les populations habitant ces régions, du fait que, pour une raison ignorée, vraisemblablement une liaison avec un autre gène, l'enzymopathie s'accompagne d'une plus grande résistance du sujet qui en est porteur, contre les formes mortelles du paludisme. Les mutations ont dû être multiples : l'enzymopathie a des caractères qui varient suivant les races étudiées.

La pathogénie des accidents entraînés par l'enzymopénie, n'est encore qu'imparfaitement connue. Il se peut même que l'on ait exagéré la responsabilité du déficit en G. 6P.D. ; d'autres facteurs héréditaires coexistent avec lui et ont peut-être une importance ignorée : un déficit en catalase chez tous les sujets, un déficit en facteur protecteur sérique chez les faviques, un caractère familial dans les ictères graves néonataux.

Il faut d'autre part toujours penser à la possibilité d'une coïncidence et ne pas établir immédiatement un rapport de cause à effet entre une enzymopathie constatée chez un sujet appartenant à une race où la tare est fréquente, et la maladie dont il est porteur.

Cette question fait encore l'objet de nombreuses recherches portant sur l'existence du déficit dans d'autres tissus que le sang et sur les propriétés des enzymes purifiées, isolées dans différentes races et différents tissus.

Le but de nos travaux personnels était plus modeste et pratique : mettre au point une méthode diagnostique du déficit enzymatique pour faire cette recherche dans les cas où elle est intéressante en pédiatrie. Nous voulions, en particulier, étudier des enfants qui étaient suivis depuis plusieurs années à la Clinique Médicale Infantile de Nancy, sans que l'on ait abouti à un autre diagnostic que celui, fort peu satisfaisant, d'anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire. Mais nos espérances ont été déçues, nous n'avons pas trouvé de déficit en G. 6P.D. chez eux. Nous n'en avons pas non plus trouvé chez les Français sains ou malades chez qui nous avons fait cette recherche, mais nous l'avons découvert chez dix sujets originaires de Sardaigne. Nous avons pu affirmer le diagnostic de favisme, chez l'un d'entre eux et suivre l'évolution du test de stabilité du GSH, au décours de la crise favique.

Nous avons diagnostiqué l'enzymopénie chez un autre Sarde, porteur par ailleurs d'une méthémoglobémie congénitale et du trait thalassémique. C'est, à notre connaissance, la première observation mondiale publiée de coexistence du déficit enzymatique et d'une méthémoglobémie congénitale, due à un déficit en diaphorase I. Elle est très intéressante, car les rapports entre déficit en G. 6P.D. et méthémoglobémie acquise, ont fait l'objet de nombreuses discussions. Dans ce cas de méthémoglobémie congénitale, l'étude des membres de la famille du malade, porteurs uniquement soit de la méthémoglobémie congénitale, soit de l'enzymopénie, nous a montré que cette association n'était qu'une coïncidence, due à leur origine sarde. Le déficit en G. 6P.D., s'il n'est pas responsable de la méthémoglobémie congénitale, réagit, cependant, sur elle en l'aggravant, car il prive l'hématie de son deuxième système réducteur de la méthémoglobine (par la diaphorase II).

L'existence, dans l'Est de la France, d'une importante population d'ouvriers italiens rend utile la connaissance par le Pédiatre de la pathologie toute spéciale qui résulte du déficit en G. 6P.D. C'est là une des raisons qui nous a poussé à étudier ce problème, qui par ailleurs est très intéressant d'un point de vue hématologique, génétique et ethnologique.

BIBLIOGRAPHIE

Nous remercions Mlle G. KOEST, bibliothécaire de la Faculté, et ses collaborateurs, pour l'aide compétente qu'ils nous ont apportée au cours de nos recherches bibliographiques.

1. ADAM (A.). — Linkage between deficiency of G. 6P.D. and colour blindness. *Nature, London*, 1961, **189**, 686.
2. ALLISON (A.C.). — Danger of vitamin K to newborn. *Lancet*, 1955, **1**, 669.
3. ALLISON (A.C.). — Acute haemolytic anemia with distortion and fragmentation of erythrocytes in children. *Brit. J. Haemat.*, 1959, **3**, 1-18.
4. ALLISON (A.C.). — G. 6P.D. deficiency in red blood cells of East Africans. *Nature, London*, 1960, **186**, 531-532.
- 4 bis. ALLISON (A.C.). — Abnormal haemoglobin and erythrocyte enzyme deficiency traits.
In Genetical variation in human populations. Ed. by G.A. HARRISON. Oxford, Pergamon Press, 1961, pp. 16-40.
5. ALLISON (A.C.), CLYDE (D.F.). — Malaria in African children with deficient G. 6P.D. in erythrocytes. *Brit. méd. J.* (in press), [cité par MOTULSKY (188)].
6. ALLISON (A.C.), MOORE (T.), SHARMAN (I.M.). — Haemolysis and haemoglobinuria in vitamin E deficient rats after injections of vitamin K substitutes. *Brit. J. Haemat.*, 1956, **2**, 197-204.
7. ALTMAN (K.I.). — Some enzymologic aspects of the human erythrocyte. *Amer. J. Med.*, 1959, **27**, 936-951.
8. ALVING (A.), CRAIGE (J.), WHORTON (C.), PULLMAN (T.), EICHELBERGER (L.). — Pentaquine, a therapeutic agent effective in reducing the relapse rate in vivax Malaria. *J. clin. Invest.*, 1948, **27**, 25-33.
9. ALVING (A.), CRAIGE (B.), PULMAN (T.), WHORTON (C.), EICHELBERGER (L.). — Procedures used at Stateville Penitentiary for the testing of potential antimalarial agents. *J. clin. Invest.*, 1948, **27**, 2-5.
10. ALVING (A.S.), KELLERMEYER (R.W.), TARLOV (A.), SCHRIER (S.L.), CARSON (P.). — Biochemical and genetic aspects of primaquine sensitive hemolytic anemia. *Ann. int. med.*, 1958, **49**, 240-248.
11. ANZIULEWICZ (J.A.), DICK (H.J.), CHIARULLI (E.E.). — Transplacental naphthalene poisoning. *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1959, **78**, 519-521.
12. ARESU (G.), BRUNETTI (P.), GRIGNANI (G.), MATIOLI (G.), VENTURA (S.). — Sulla possibilità di provocare la comparsa nelle emazie dei fabici di abbondanti corpi di Heinz a distanza della crisi emolitica previa incubazione con acetil fenil drazina. *Rass. med. Sarda*, 1958, **60**, 365-371.
13. ARKEIL (G.C.). — Hématurie après administration de sulfamides chez l'enfant; 29 cas. *Lancet*, 1958, **1**, 826-827.
14. ASTERADOU (S.), SAMARTZIS (E.), LEIKIN (S.). — The relation of vitamin K to hyperbilirubinemia. *Pediatrics*, 1958, **21**, 397-402.
15. ATTAL (A.), ZEROLO (J.). — Anémie hémolytique aiguë après ingestion de P.A.S. ascorbique chez un enfant. Guérison par des transfusions. *Algérie méd.*, 1954, **58**, 645-649.
16. AUERBACH (V.H.), DIGEORGE (A.M.). — One gene, more than one enzyme? Von Gierke's disease a case in point. *Amer J. Dis. Child.*, 1961, **102**, 578.
17. BENESCH (R.F.), BENESCH (R.). — Relation between erythrocyte integrity and sulfhydryl groups. *Arch. Biochem.*, 1954, **48**, 38-42.

18. BERNARD (J.). — L'hémolyse aiguë familiale. *Sang*, 1950, **21**, 206-220.
- 18 bis. BERNARD (J.), DREYFUS (J.C.). — Hémolyse aiguë familiale et déficit en G. 6P.D. des erythrocytes. *N.R.F. Hemat.*, 1962, **2**, 135-138.
19. BETKE (K.), SCHALL (H.). — Anémie hémolytique aiguë à corps de Heinz. *Z. Kinderh.* (Berlin), 1958, **81**, 379-388.
19. Analyse in *Sem. Hôp. Paris*, 1959, 290.
20. BEUTLER (E.). — The hemolytic effects of Primaquine and related compounds: a review. *Blood*, 1959, **14**, 103-139.
21. BEUTLER (E.), DERN (R.J.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: III a study of Primaquine sensitive erythrocytes. *J. Lab. clin. Med.*, 1954, **44**, 177-184.
22. BEUTLER (E.), DERN (R.J.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: IV. The relationship of cell age to hemolysis. *J. Lab. clin. Med.*, 1954, **44**, 439-442.
23. BEUTLER (E.), DERN (R.J.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: VI. An in vitro test for sensitivity of erythrocytes to Primaquine. *J. Lab. clin. Med.*, 1955, **45**, 40-50.
24. BEUTLER (E.), DERN (R.J.), FLANAGAN (C.L.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: VII. Biochemical studies of drug sensitive erythrocytes. *J. Lab. clin. Med.*, 1955, **45**, 286-294.
25. BEUTLER (E.), ROBSON (M.), BUTTENWIESER (E.). — The mechanism of glutathione destruction and protection in drug sensitive and non-sensitive erythrocytes. In vitro studies. *J. clin. Invest.*, 1957, **36**, 617-628.
26. BEUTLER (E.), ROBSON (M.), BUTTENWIESER (F.). — The glutathione instability of drug sensitive red cells (a new method for the in vitro detection of drug sensitivity). *J. Lab. clin. Med.*, 1957, **49**, 84-95.
27. BEUTLER (E.), YEH (M.K.Y.), NECHELES (T.). — Incidence of the erythrocyte defect associated with drug sensitivity among oriental subjects. *Nature* (London), 1959, **183**, 684-685.
28. BLANC (C.). — Les anémies hémolytiques congénitales non sphérocytaires. 56 p. dactyl. *Thèse Méd. Nancy*, 1960.
29. BLATTNER (R.J.). — Summarized comments on current literature. *J. Pediat.*, 1959, **55**, 531-533.
30. BOGGS (J.T.R.). — Glutathione concentration in the erythrocytes of normal infants and infants suffering from erythroblastosis fetalis. *J. Lab. clin. Med.*, 1958, **51**, 293-296.
31. BOISSIÈRE (H.). — Le favisme chez l'enfant. *Gaz. Med. Fr.*, 1957, **64**, 29-36.
32. BONO (G.), GAMALERO (P.). — Ulteriore contributo allo studio della cianosi metaemoglobinemia costituzionale. *Minerva pediat.*, 1958, **41**, 1076-1083.
33. BOUND (J.P.), TELFER (T.P.). — Effect of vitamin K dosage on plasma bilirubin levels in premature infants. *Lancet*, 1956, **1**, 720.
34. BOWMAN (J.E.), WALKER (D.G.). — Action of vicia faba on erythrocytes: possible relation to favism. *Nature, London*, 1961, **189**, 555-556.
35. BRAFIELD (A.J.), REEF (I.). — Atypical congenital haemolytic anemia. *Arch. Dis. Child.*, 1957, **32**, 93-98.
36. BREWER (G.J.), TARLOV (A.R.), KELLERMEYER (R.W.). — The hemolytic effect of Primaquine: XII. Shortened erythrocyte life span in Primaquine sensitive male negroes in the absence of drug administration. *J. Lab. clin. Med.*, 1961, **58**, 217-224.
37. BROWN (A.K.), BUQUIR (S.L.). — Spontaneous Heinz body formations in full term and premature infant. *Amer. J. Dis. Child.*, 1961, **102**, 589.
38. BRULE (M.), PESTEL (M.). — Intoxication par les fèves et hémoglobinurie. *Presse méd.*, 1943, **18**, 241-242.

39. BRULE (M.), PESTEL (M.), DURGEAT (J.). — Deux cas simultanés dont un mortel d'hémoglobinurie par ingestion de fèves. *Bull. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1943, **59**, 78-81.
40. BRUNETTI (P.). — Sulla glicolisi eritrocitaria spontanea nei fabici. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 102-105.
41. BRUNETTI (P.), BROCCIA (G.). — Anemia emolitica acuta da chinidina in soggetto portatore delle stigmate bio-enzymatiche eritrocitarie proprie del fabici. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1959, **35**, 688.
42. BRUNETTI (P.), BROCCIA (G.). — Nuove acquisizioni in tema di favismo ittero-emoglobinurico. Nota II il compartimento dei pentosi eritrocitari. *Rass. Fisiopat. clin. ter.*, 1960, **32**, 329-337.
43. BRUNETTI (P.), ROSSETTI (R.), BROCCIA (G.). — New contributions on the subject of the bioenzymology of ictero-hemoglobinuric favism. Note 3. G. 6P.D. activity of the hepatic parenchyma. *Rass. Fisiopat. clin. ter.*, 1960, **32**, 338-350. d'après LARIZZA (158).
44. BRUNETTI (P.), GRIGNANI (F.). — Il test di stabilità del glutatione nelle emazie dei fabici a distanza della crisi emolitica. *Rass. med. Sarda*, 1958, **4**, 387.
45. BRUNETTI (P.), GRIGNANI (F.), SULIS (E.). — Anemia emolitica acuta da cloramfenicolo in soggetti con anomalie bioenzimatiche eritrocitarie. *Haematologica*, 1959, **44**, 837-844.
46. BUZARD (J.), KOPKO (F.), PAUL (M.). — Inhibition of Glutathione reductase by nitrofurantoin. *J. Lab. clin. Med.*, 1960, **56**, 884-890.
47. CARCASSI (U.). — *Eritroenzymopatie ed anemie emolitiche*. Pisa, Ed. Omnia medica, 1959, 376 p.
48. CARSON (P.E.). — G. 6P.D. deficiency in hemolytic anemia. *Fed. Proc.*, 1961, **19**, 995-1006.
49. CARSON (P.E.), FLANAGAN (C.L.), ICKES (C.E.), ALVING (A.S.). — Enzymatic deficiency in Primaquine sensitive erythrocytes. *Science*, 1956, **124**, 484-485.
50. CARSON (P.E.), SCHRIER (S.L.), KELLERMAYER (R.W.). — Mechanism of inactivation of G. 6PD. in human erythrocytes. *Nature*, London, 1959, **184**, 1292-1293.
51. CARSON (P.E.), SCHRIER (S.L.), ALVING (A.S.). — Inactivation of G. 6P.D. in human erythrocytes. *J. Lab. clin. Med.*, 1956, **48**, 794-795.
52. CASTANIER (J.), MALMEJAC (R.), SIBOUN (Y.), BORRA (M.), PARIENTE (P.). — Six cas d'anémies hémolytiques aiguës après ingestion d'une préparation de P.A.S. en solution. *Arch. franç. Pédiat.*, 1954, **11**, 380-387.
53. CAZAL (P.), LALAURIE (M.). — Recherches sur quelques phytoagglutinines spécifiques des groupes sanguin A.B.O. *Acta haemat.*, 1952, **8**, 73.
54. CHADOUTAUD (L.). — Sur le favisme. *Presse méd.*, 1959, **57**, 132-133.
55. CHILDS (B.), ZINKHAM (W.H.), BROWNE (E.A.), KIMBRO (E.L.), TORBERT (J.W.). — A genetic study of a deficit in glutathione metabolism of the erythrocytes. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1958, **102**, 21-37.
- 55 bis. CHILDS (B.), ZINKHAM (W.H.). — The genetics of primaquine sensitivity of the erythrocytes. In: *Biochemistry of human genetics*. London, Churchill, 1959, pp. 76-95.
56. CHRISTIAENS (L.), GOUDEMAND (M.). — Nouveau cas d'anémie hémolytique grave à la suite de l'ingestion de P.A.S. ascorbique. *Arch. franç. Pédiat.*, 1952, **9**, 885-889.
57. CLAPS (F.). — Two cases of methemoglobinemia and acute hemolytic anemia with death following the ingestion of a solution of P.A.S. *Amer. Rev. Tuber.*, 1957, **76**, 862-866.

58. CLAYMAN (C.), ARNOLD (J.), HOCKWALD (R.S.), YOUNT (E.), EDGCOMB (J.H.), ALVING (A.S.). — Status of primaquine: III. Toxicity of primaquine in Caucasians. *J. Amer. med. Ass.*, 1952, **149**, 1563-1568.
59. COCK (T.C.). — Acute hemolytic anemia in the neonatal period. *Amer. J. Dis. Child.*, 1957, **94**, 77-81.
60. COHEN (R.G.). — Histochemical localization and metabolic significance of G. 6P.D. system in adrenal cortex. *Proc. Soc. exp. Biol.* (N.Y.), 1959, **101**, 405-407.
61. COLOMBO (M.L.), PAVESIO (D.). — Influenza della vitamina K sulla formazione dei corpi di Heinz e sulla resistenza globulari nell'immaturato. *Minerva pediat.*, 1959, **11**, 1426-1451.
62. COMBE (P.), CABANNES (C.). — Anémie hémolytique aiguë avec hémoglobinurie chez un enfant de six ans. Favisme suspecté. *Pédiatrie*, 1952, **7**, 562.
63. CORCOS (A.). — Hémoglobinurie gravissime après absorption de sulfadiazine et de P.A.S. ascorbique guérie par transfusions. *Sang.*, 1953, **25**, 445.
64. CRAIGE (B.), EICHELBERGER (L.), JONES (R.), ALVING (A.), PULLMAN (T.), WHORTON (C.). — The toxicity of large doses of Pentaquine (SN 13, 276). A new antimalarial drug. *J. clin. Invest.*, 1948, **27**, 17-24.
65. CREGER (W.P.), GRIFFORD (H.). — Some interrelationship of blood and the fava bean principle in vitro. *Blood*, 1952, **7**, 721-728.
66. CROSBY (W.H.). — Hereditary non spherocytic hemolytic anemia. *Blood*, 1950, **5**, 233-253.
67. CROSBY (W.H.). — Favism in Sardinia (new letter). *Blood*, 1956, **11**, 91-92.
- 67 bis. DACIE (J.V.). — *The haemolytic anemias congenital and acquired*. 2d ed. London, Churchill, 1960, 339 p.
68. DANON (D.), SHEBA (C.H.), RAMOT (B.). — The morphology of G. 6P.D. deficient erythrocytes electron microscopic studies. *Blood*, 1961, **17**, 229-234.
69. DAWSON (J.P.), THAYER (W.W.), DESFORGES (J.F.). — Acute hemolytic anemia in the newborn infant due to naphthalene poisoning. Report of two cases, with investigation into the mechanism of the disease. *Blood*, 1958, **13**, 1113-1123.
70. DAWSON (J.P.), DESFORGES (J.F.). — Methemoglobin reduction in the erythrocytes of newborns: further evidence of « enzymatic immaturity » in the newborn. *Amer. J. Dis. Child.*, 1958, **96**, 478.
71. DEBRÉ (R.), LAMY (M.), AUSSANAIRE (M.), MOZZICONACCI (P.), BUHOT (S.). — Anémies hémolytiques aiguës déterminées chez le jeune enfant par l'administration de phénylsemicarbazide à doses élevées. *Sem. Hôp. Paris*, 1950, **26**, 1905-1910.
72. DEPPERU (E.), RICCARDI (M.). — Manifestazioni emolitiche ed esami ematomidollari in bambini sardi durante il trattamento con il « P.A.S. ». *Pediatria*, 1950, **58**, 184-197.
73. DERN (R.J.), BEUTLER (E.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: II The natural course of the hemolytic anemia and the mechanism of its self-limited character. *J. Lab. clin. Med.*, 1954, **44**, 171-176.
74. DERN (R.J.), BEUTLER (F.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: V. Primaquine sensitivity as a manifestation of a multiple drug sensitivity. *J. Lab. clin. Med.*, 1955, **45**, 30-39.
75. DERN (R.J.), WEINSTEIN (I.M.), LEROY (G.V.), TALMAGE (D.W.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: I. The localisation of the drug induced hemolytic defect on primaquine-sensitive individual. *J. Lab. clin. Med.*, 1954, **43**, 303-309.

76. DESFORGES (J.F.), KALAW (E.), GILCHRIST (P.). — Inhibition of G. 6P.D. by hemolysis inducing drugs. *J. Lab. clin. Med.*, 1960, **55**, 757-766.
77. DESFORGES (J.F.), THAYER (M.W.), DAWSON (J.P.). — Hemolytic anemia induced by sulfoxone therapy with investigations into the mechanism of its production. *Amer. J. Med.*, 1959, **27**, 132-136.
78. DICKENS (F.). — Recent advances in knowledge of the hexose monophosphate shunt. *Annals N. Y. Acad. Sci.*, 1958, **75**, 71-94.
79. DIDIER (R.), DIACOMO (G.), BORSONI (G.). — Anémie hémolytique aiguë hémoglobininurique d'origine favique chez un nourrisson. *Pédiatrie*, 1955, **10**, 651-653.
80. DISCOMBE (G.). — In: *Sensitivity reactions to drugs* a symposium. Paris, Masson, pp. 6-16.
81. D'OELSnitz (A.). — Anémie aiguë hémolytique après ingestion de fèves fraîches. *Arch. franç. Pédiat.*, 1953, **10**, 106.
82. DOXIADIS (S.A.), FESSAS (P.), VALAES (T.). — Erythrocyte enzyme deficiency in unexplained kernicterus. *Lancet*, 1960, **2**, 44.
83. DREYFUS (B.). — Cytopénie et chimiothérapie. *Revue franç. clin. biol.*, 1958, **3**, 735-738.
84. DRISCOLL (S.G.), YI-YUNG HSIA (D.). — The development of enzymes systems during early infancy. *Pediatrics*, 1958, **22**, 785-845.
85. DROUET (P.L.), HERBEUVAL (R.), FAIVRE (G.). — Sur un cas probable de favisme. Purpura avec hemorrhagies digestives. *Sang*, 1947, **17**, 119-120.
86. DURAND (Ch.). — Toxicité de la vitamine K2 en clinique humaine. *Congrès méd.*, 1958, **80**, 1425-1438.
87. EARLE (D.P.J.), BIGELOW (F.S.), ZUBROD (C.G.), KANE (C.A.). — Studies on the chemotherapy of the human malarial IX. Effect of Primaquine on the blood cells of man. *J. clin. Invest.* (supplément), 1948, **27**, 121-129.
88. EBAUGH (F.G.J.), EMERSON (C.P.), ROSS (T.F.). — The use of radioactive chromium as an erythrocyte tagging agent for determination of red cell survival in vivo. *J. clin. Invest.*, 1953, **32**, 1260.
89. EMANUEL (B.), SCHOENFELD (A.). — Favism in a nursing infant. *J. Pediatrics*, 1961, **58**, 263-266.
90. FARQUHAR (J.W.). — Control of the blood sugar level in the neonatal period. *Arch. Dis. Child.*, 1954, **29**, 519-539.
91. FARRELL (J.), COTTON (D.). — Heinz body anemia with splenic hypoplasia. *Acta paed.*, 1960, **49**, 431-436.
92. FEGLER (G.). — Relationship between GSH content and spontaneous haemolysis in shed blood. *Nature*, London, 1952, **170**, 624-625.
93. FEINBERG (A.W.), WATSON (S.). — Non spherocytic chronic hemolytic anemia with basophilic stippling, report of a case in a Negro. *Blood*, 1951, **6**, 357-364.
94. FERTMAN (M.H.), FERTMAN (F.B.). — Toxic anemias and Heinz bodies. *Medicine*, 1955, **34**, 131-192.
95. FIORIO (G.). — Considerazioni sui rapporti fra corpi di Heinz e iperemolisi nel quadro di forme particolari di ittero emolitico. *Riv. Clin. pediat.*, 1959, **64**, 101-113.
96. FLANAGAN (C.L.), BEUTLER (E.), DERN (R.J.), ALVING (A.S.). — Biochemical changes in erythrocytes during hemolysis induced by aniline derivatives. *J. Lab. clin. Med.*, 1955, **46**, 814.
97. FLANAGAN (C.L.), SCHRIER (S.L.), CARSON (P.E.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: VIII. The effect of drug administration on parameters of primaquine sensitivity. *J. Lab. clin. Med.*, 1958, **51**, 600-608.

98. FONTAN, VERGER, VERIN, MOULINIER et Mlle MOURY. — Les accidents hémolytiques du P.A.S.; à propos de deux observations dont une mortelle, après absorption d'ampoules buvables de P.A.S. ascorbique. *Arch. franç. Pédiat.*, 1955, **12**, 322.
99. FRADA (G.). — Sur la pathogénie de l'hémolyse du favisme. *Sang*, 1950, **21**, 226-229.
100. GABURRO (D.), VOLPATO (S.), GIAQUINTO (P.). — Ictère nucléaire du nouveau-né par défaut de la G. 6P.D. *Sem. Hôp. Paris*, 1961, **8**, 2485-2488.
101. GELIN (G.). — Anémie aiguë de Lederer-Brill et favisme. *Sang*, 1952, **23**, 622-626.
102. GENNIS (J.), STRAUS (B.), KENNEY (M.), KLEIN (B.). — The use of Primaquine for the treatment of malaria in korean veterans. *Amer. J. Med.*, 1954, **47**, 223-228.
103. GHIRINGHELLI (L.). — Rapporti tra attivata' della G. 6P.D. concentrazione del GSH e corpuscoli di Heinz negli eritrociti normali. *Med. d. Lavoro*, 1960, **51**, 59-67.
104. GILLES (H.M.), IKENE (A.C.). — Haemoglobinuria among adult Nigerians due to G. 6P.D. deficiency with drug sensitivity. *Lancet*, 1960, **2**, 889-891.
105. GILLES (H.M.), WATSON-WILLIAMS (J.), TAYLOR (B.). — G. 6P.D. deficient trait in Nigeria (leproseries). *Nature*, London, 1960, **185**, 257-258.
106. GILLOT (F.), CABANNES (R.), MANFREDI (G.). — Sur une nouvelle observation d'anémie favique à Alger. *Arch. franç. Pédiat.*, 1955, **12**, 1019-1021.
107. GINGOLD (N.), COMSA (G.). — Anémie hémolytique aiguë grave avec tableau leucémoïde, consécutive à une angine traitée par divers agents chimiques. Considérations pathogéniques. *Sang*, 1939, **13**, 517-527.
108. GIRAUD (P.), BERNARD (R.), AUBERT (J.M.). — Les anémies aiguës hémolytiques de l'enfance (période néonatale exceptée). *Pédiatrie*, 1950, **5**, 615-628.
109. GIRAUD (P.), BERNARD (R.), BADETTI (L.). — Les anémies sévères du petit enfant: bilan statistique. A propos de cent observations. *Pédiatrie*, 1954, **9**, 433-438.
110. GLOCK (G.E.), Mc LEAN (P.). — Further studies of the properties and assay for G. 6P.D. and 6 phospho-gluconate dehydrogenase of rat liver. *Bioch. J.*, 1953, **55**, 400-408.
111. GRANGETT (C.), ROLLIER (D.), RAYNAUD (F.), DE FITTE (A.). — Un cas d'anémie hémolytique aiguë après absorption de P.A.C. *Maroc médical*, 1953, **32**, 1361-1362.
112. GREENBERG (M.S.), WONG (H.). — Studies on the destruction of glutathione instable red blood cells. *J. Lab. clin. Med.*, 1961, **57**, 733-746.
113. GRIGNANI (F.), BRUNETTI (P.). — Sul compartimento del GSH nelle emazie dei fabici nel corso della crisi emolitica ed a varia distanza della stessa. *Rass. med. Sarda*, 1958, **60**, 373-386.
- 113 bis. GRIGNANI (F.), BRUNETTI (P.). — Aldolasi glicerinaldeide fosfato deidrogenasi e lattico deidrogenasi eritrocitarie nel favismo. *Rass. med. Sarda*, 1958, **60**, 423.
114. GROSS (S.). — G. 6P.D. activity in hemolytic disease of the newborn. *Amer. J. Dis. Child.*, 1961, **102**, 591.
115. GROSS (R.T.), HURWITZ (R.E.). — A comparative study of the glycolytic and pentose phosphate pathways in red blood cells of newborns, prematures, infants and children (abstract). *Amer. J. dis. Child.*, 1957, **94**, 487.

116. GROSS (R.T.), HURWITZ (R.E.). — The pentose phosphate pathway in human erythrocytes: the relationship between the age of the subject and enzyme activity. *Pediatrics*, 1958, **22**, 453-460.
117. GROSS (R.T.), HURWITZ (R.E.), MARKS (P.A.). — An hereditary enzymatic defect in erythrocyte metabolism G. 6P.D. deficiency. *J. clin. Invest.*, 1958, **37**, 1176-1184.
118. GROSS (R.T.), MARKS (P.A.), HURWITZ (R.E.), BEASLEY (J.), SUI (M.). — Studies on the hereditary enzymatic defect in certain drug induced hemolytic anemias. *Amer. J. Dis. Child.*, 1958, **96**, 437.
119. GROSS (R.T.), MARKS (P.A.). — Enzymes in Blood: « an hereditary enzymatic defect in red blood cells; its relation to certain drug-induced hemolytic anemia. *Annals N. Y. Acad. Sci.*, 1958, **75**, 106-110.
120. GRUCHY (G.C. de), CRAWFORD (H.), MORTON (D.). — Atypical (non spherocytic) congenital haemolytic anemia. *Congr. Soc. int. Emat.* 7°, Roma, 1958, p. 198. [Cité par DACIE (67 bis)].
121. GRUCHY (G.C. de), SANTAMARIA (J.N.), PARSON (I.C.), CRAWFORD (H.). — Non spherocytic congenital hemolytic anemia. *Blood*, 1960, **16**, 1371-1397.
122. GRUNERT (R.R.), PHILLIPS (P.H.). — A modification of the nitroprusside method of analysis for glutathione. *Arch. Biochem.*, 1951, **30**, 217-225.
123. GUEZ (J.). — Anémie hémolytique aiguë, avec hémoglobininurie due à l'association de P.A.S. ascorbique et d'un traitement à la streptomycine chez un enfant atteint d'abcès froid, tuberculeux, consécutif à une injection de sérum humain. *Sang*, 1952, **23**, 363-369.
124. HALLOWELL (M.). — Acute haemolytic anemia following the ingestion of para-dichlorobenzene. *Arch. Dis. Child.*, 1959, **34**, 173-174.
125. HARLEY (J.D.), MAUER (A.M.). — Studies on Heinz body formation. *Amer. J. Dis. Child.*, 1960, **100**, 522-523.
126. HARLEY (J.D.), MAUER (A.M.). — Studies on the formation of Heinz bodies. *Blood*, 1960, **16**, 1722-1735.
127. HARLEY (J.D.), MAUER (A.M.). — Studies on the formation of Heinz bodies II. The nature and significance of Heinz bodies. *Blood*, 1961, **18**, 418-433.
128. HARRIS (J.W.). — Studies on the mechanism of a drug induced hemolytic anemia. *J. Lab. clin. Med.*, 1956, **47**, 760-775.
129. HARVEY (A.M.), JANEWAY (C.A.). — The development of acute hemolytic anemia during the administration of sulfanilamide. *J. A. med. Ass.*, 1937, **109**, 12-16.
130. HELLER (P.), WEINSTEIN (H.G.). — Aldolase, isocitric deshydrogenase, and malic deshydrogenase in G. 6P.D. deficient erythrocytes. *J. Lab. clin. Med.*, 1959, **54**, 824-825.
131. HOCKWALD (R.S.), ARNOLD (J.), CLAYMAN (C.B.), ALVING (A.S.). — Status of Primaquine IV: toxicity of Primaquine in Negroes. *J. A. med. Ass.*, 1952, **149**, 1568-1570.
132. HOFFMAN (J.F.). — Ultrastructure of erythrocyte membranes in thalassemia major and minor. *Blood*, 1956, **11**, 946-956.
133. HOUSTON (I.B.), BARLOW (A.M.). — Acute haemolytic anemia and methaemoglobinemia produced by phenacetin. *Lancet*, 1959, **2**, 1062.
134. HUBER (J.), ODINET (J.), MATET (Y.), NICOLAS (L.). — Un nouveau cas d'anémie hémolytique aiguë fébrile par absorption de phénicarbazide. *Arch. franç. Pédiat.*, 1951, **8**, 158-160.
135. ISHERWOOD (F.A.). — Chemistry and biochemistry of glutathione. *Bioch. Soc. Symposia*, 1959, **17**, 3-16.
136. JANDL (J.H.), ENGLE (L.K.), ALLEN (D.W.). — Oxydative hemolysis and precipitation of hemoglobin. I Heinz body anemias as an acceleration of red cell aging. *J. clin. Invest.*, 1960, **39**, 1818-1836.

137. JANET (M.), WEILL (J.), HAQUIN (C.H.), BERNFELD (Mme), HARI (J.).
Un cas d'anémie hémolytique aiguë chez un nourrisson après absorption d'acide para amino salicylique en solution buvable. *Arch. franç. Pédiat.*, 1951, **8**, 78-79.
138. JOSEPHSON (A.), SHAPIRO (C.H.), ROZENSVAIG (S.), SINGER (K.). — The experimental production of Heinz bodies in various hemoglobinopathies and the thalassemic syndromes. *J. Lab. clin. Med.*, 1958, **51**, 736-744.
139. KANTOR (E.), ARBESMAN (C.). — Serologie Studies on favism. *J. Allergy*, 1959, **30**, 114-122.
140. KAPLAN (E.), ZUELZER (W.W.). — Familial non spherocytic hemolytic anemia. *Blood*, 1950, **5**, 811-824.
141. KAY (W.W.), MURFITT (K.C.). — The determination of blood glutathione. *Bioch. J.*, 1960, **74**, 202-208.
142. KELLERMAYER (R.), TARLOV (A.R.), SCHRIER (S.L.), ALVING (A.S.). — Hemolytic effect of commonly used drugs on erythrocytes deficient in G. 6P.D. *J. Lab. clin. Med.*, 1958, **52**, 827-828.
143. KELLERMAYER (R.), TARLOV (A.), SCHRIER (S.), CARSON (P.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: XIII gradient susceptibility to hemolysis of Primaquine sensitive erythrocytes. *J. Lab. clin. Med.*, 1961, **58**, 225-233.
144. KIDSON (C.). — Erythrocytes G. 6P.D. deficiency in New Guinea and New Britain. *Nature, London*, 1961, **190**, 1120-1121.
145. KIMBRO (E.L., Jr.), SACHS (M.V.), TORBERT (J.V., Jr.). — Mechanism of hemolytic anemia induced by nitrofurantoin (Furadantin). *Bull. Johns. Hopkins Hosp.*, 1957, **101**, 245-257.
146. KIRKMAN (H.N.). — Characterization of partially purified G. 6P.D. from normal and primaquine sensitive erythrocytes. *Fed. Proc.*, 1959, **18**, 261.
147. KIRKMAN (H.N.). — Characteristics of G. 6P.D. from normal and primaquine sensitive erythrocytes. *Nature, London*, 1959, **184**, 1291-1292.
148. KIRKMAN (H.N.). — Primaquine sensitivity.
In: Molecular genetics and human disease, Springfield, C.C. Thomas, 1961, pp. 106-133.
149. KIRKMAN (H.N.), RILEY (H.D.). — Congenital non spherocytic hemolytic anemia. *Amer. J. Dis. Child.*, 1961, **102**, 313-320.
150. KIRKMAN (H.N.), RILEY (H.D.). — A new expression of G. 6P.D. in a family with congenital non spherocytic hemolytic anemia. *Amer. J. Dis. Child.*, 1961, **102**, 584.
151. KOHN (S.E.). — Acute hemolytic anemia during treatment with sulfanilamide. *J. A. med. Ass.*, 1937, **109**, 1005-1006.
152. KORNBERG (B.), HORECKER (B.L.). — Glucose-6-phosphate dehydrogenase. *In: Methods in enzymology*. Ed. by COLOWICK and KAPLAN. V. 1. New-York, Academic Press, 1955, p. 323.
153. KRAVITZ (H.), ELEGANT (L.D.), KAISER (E.), KAGAN (B.). — Methemoglobin values in premature and mature infants and children. *Amer. J. Dis. Child.*, 1956, **91**, 1-5.
154. KRECHMER (N.). — Enzymatic patterns during development. An approach to a biochemical definition of immaturity. *Pediatrics*, 1959, **23**, 606-617.
155. KRAVIT (W.), SMITH (R.T.), MARVIN (J.F.), READ (R.), GOOD (R.A.).
Congenital non spherocytic hemolytic anemia. Two non familial cases with red cell survival studies. *J. Pediat.*, 1956, **49**, 245-254.
156. LANGE (R.D.), AKEROYD (J.H.). — Congenital hemolytic anemia with abnormal pigment metabolism and red cell inclusion bodies. A new clinical syndrome. *Blood*, 1958, **13**, 950-958.

157. LARIZZA (P.). — Eredopatie enzimatiche eritrocitarie ed anemie emolitiche pseudoacquisite. *Minerva med.*, 1960, **51**, 2605-2613.
158. LARIZZA (P.), BRUNETTI (P.), GRIGNANI (F.). — Anemie emolitiche enzimopeniche. *Haematologica*, 1960, **45**, 1-90; 129-212.
159. LARIZZA (P.), BRUNETTI (P.), GRIGNANI (F.). — Enzyme deficiency haemolytic anemias. *Lancet*, 1960, **1**, 601.
160. LARIZZA (P.), BRUNETTI (P.), GRIGNANI (F.), VENTURA (S.). — L'individualità bio-enzimatica dell'Eritrocito « Fabico » sopra alcune anomalie biochimiche ed enzimatiche delle emazie nei pazienti affetti da favismo e nei loro familiari. *Haematologica*, 1958, **43**, 205-250.
161. LARIZZA (P.), BRUNETTI (P.), GRIGNANI (F.), VENTURA (S.). — I fabici sono sensibili alla primachina (possibilità di provocare nei fabici l'insorgenza di episodio emolitico con la somministrazione di Primachin). *Minerva med.*, 1958, **49**, 3769-3773.
162. LAURANCE (B.). — Danger of vit. K analogues to newborns. *Lancet*, 1955, **1**, 819.
163. LEDERER (R.). — A new form of acute hemolytic anaemia: « Baghdad spring anaemia ». *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1940, **34**, 388. [Cité par CARCASSI (47)].
164. LENZERINI (L.), CONTU (L.). — Il tempo di Sopravivenza di emazie fabiche targate con Cr⁵¹ trasfuse in recettori Normali. *Rass. Fisiopatol. clin. ter.*, 1960, **32**, 312-328.
165. LISKER (R.), LORIA (A.), SRYGLER (I.). — Hemolytic anemia associated to instability of the reduced glutathione of the erythrocytes. Family affected with this defect. *Prensa med. Mex.*, 1960, **25**, 2-8. [Analyse in: *Blood*, 1961, **18**, 491-492].
166. LOHR (G.W.), WALLER (H.D.). — Hämolytische Erythrocytopathie durch Fehlen von G. 6P.D. in roten Blutzellen als dominant vererbtliche Krankheit. *Klin. Wschr.*, 1958, **36**, 865-869.
167. LUCEY (J.F.), DOLAN (R.G.). — Hyperbilirubinemia of newborn infants associated with the parenteral administration of a vitamin K analogue to the mothers. *Pediatrics*, 1959, **23**, 553-560.
168. LUISADA (L.). — Favism: a singular disease affecting chiefly red blood cells. *Medicine*, 1941, **20**, 229-250.
169. LUST (M.). — L'anémie hémolytique aiguë grave à la suite d'ingestion de P.A.S. ascorbique en solution buvable. *Scalpel*, 1953, **106**, 288-289.
170. MAC GOVERN (J.J.), ISSELBACHER (K.), ROSE (P.J.), GROSSMAN (M.S.). — Observations on the G.S.H. stability of red blood cells. *Amer. J. Dis. Child.*, 1958, **96**, 502.
171. MACKELL (J.V.), RIEDERS (F.), BRIEGER (H.), BAUER (E.L.). — Acute hemolytic anemia due to ingestion of naphthalene moth balls. *Pediatrics*, 1951, **15**, 722-728.
172. MARIE (J.), FABIANI (P.), SERINGE (P.), SALET (J.), ATTAL (C.), ELIACHAR (E.), MAILLARD. — Anémie hémolytique aiguë du nourrisson déterminée par l'administration de phénylsemicarbazide. *Arch. franç. Pédiat.*, 1950, **7**, 621-624.
173. MARKS (P.A.). — A relationship between erythrocytes aging in vivo and activities of glucose 6 phosphate and 6 phosphogluconic dehydrogenase. *J. clin. Invest.*, 1957, **36**, 913.
174. MARKS (P.-A.). — Red cell glucose 6 phosphate and 6 phosphogluconic dehydrogenase and nucleoside phosphorylase. *Science*, 1958, **127**, 1338-1339.
175. MARKS (P.A.), BANKS (J.), GROSS (R.T.). — G. 6P.D. thermostability in erythrocytes of Negroes and Caucasians with erythrocyte deficiency of this enzyme. *Bioch. Biophys. Acta*, 1959, **1**, 199-202.

176. MARKS (P.A.), GROSS (R.T.). — Drug induced hemolytic anemias and congenital galactosemia: examples of genetically determined defects in erythrocyte metabolism. *Bull. N.Y. Acad. Med.*, 1959, **35**, 433-449.
177. MARKS (P.A.), GROSS (R.T.). — Further characterization of the enzymatic defect in erythrocyte G. 6P.D. deficiency. A genetically determined trait. *J. clin. Invest.*, 1959, **38**, 1023-1024.
178. MARKS (P.A.), GROSS (R.T.). — Erythrocyte G. 6P.D. deficiency: evidence of differences between Negroes and Caucasians with respect to genetically determined trait. *J. clin. Invest.*, 1959, **38**, 2261-2262.
179. MARKS (P.A.), GROSS (R.T.), BANKS (J.). — Evidence for heterogeneity among subjects with G. 6P.D. deficiency. *J. clin. Invest.*, 1961, **40**, 1060-1061.
180. MARKS (P.A.), GROSS (R.T.), HURWITZ (R.E.). — Gene action in erythrocyte deficiency of G. 6P.D. tissue enzyme levels. *Nature*, London, 1959, **183**, 1266-1267.
181. MARKS (P.A.), SZEINBERG (A.), BANKS (J.). — Erythrocyte G. 6P.D. of normal and mutant human subject. *J. biol. Chem.*, 1961, **236**, 10-17.
182. MARQUEZY (R.A.), BACH (C.H.), CAYLA (J.). — Intoxication par la phénylsemicarbazide; anémie hémolytique avec hépatite (2 observations). *Arch. franç. Pédiat.*, 1950, **7**, 624-630.
183. MATIOLI (G.), E. del PIANO. — Emazie talassemiche e corpi di Heinz. *Haematologica*, 1959, **44**, 739-748.
184. MATIOLI (G.), ARESU (G.). — Sulla presenza di corpi di Heinz nelle emazie dei fabici durante la crisi emolitica. *Rass. med. Sarda*, 1958, **4**, 357-362.
185. MOHLER (D.N.), WILLIAMS (W.J.). — The effect of phenylhydrazine on the adenosine triphosphate content of normal and G. 6P.D. deficient human blood. *J. clin. Invest.*, 1961, **40**, 1735-1742.
186. MOURIGAND (G.), EDEL (V.). — Recherches expérimentales sur la toxicité de l'acide para-amino-salicylique. *Lyon méd.*, 1951, **28**, 185.
187. MOTULSKY (A.G.). — Drug reactions, enzymes and biochemical genetics. *J. A. med. Ass.*, 1957, **165**, 835-837.
188. MOTULSKY (A.G.). — Metabolic polymorphisms and the role of infections disease in human evolution. *Hum Biol.*, 1960, **32**, 28-62.
189. MOTULSKY (A.G.), CROSBY (W.H.), RAPPAPORT (H.). — Hereditary non spherocytic hemolytic disease. A study of a singular familial hemolytic syndrome. *Blood*, 1954, **9**, 749-772.
190. MOTULSKY (A.G.), GABRIO (B.W.), BURKHART (J.), FINCH (C.A.). — Erythrocyte carbohydrate metabolism in hereditary hemolytic anemias. *Amer J. Med.*, 1955, **19**, 291.
191. MOTULSKY (A.G.), GIBLETT (F.), COLEMAN (D.), GABRIO (B.W.), FINCH (C.A.). — Life span glucose metabolism and osmotic fragility of erythrocytes in hereditary spherocytosis. *J. clin. Inv.*, 1955, **34**, 911.
192. NAYLOR (J.), ROSENTHAL (I.), GROSSMAN (A.), SCHULMAN (I.), HSIA (D.Y.Y.). — G. 6P.D. activity in patients with various abnormal hemoglobins. *Amer. J. Dis. Child.*, 1959, **98**, 622-623.
193. NAYLOR (J.), ROSENTHAL (I.), GROSSMAN (A.), SCHULMAN (I.), HSIA (Y.Y.D.). — Activity of G. 6P.D. in erythrocytes of patients with various abnormal hemoglobins. *Pediatrics*, 1960, **26**, 285-292.
194. NEWTON (W.A.Jr.), BASS (J.C.). — Glutathione sensitive chronic non spherocytic hemolytic anemia. *Amer. J. Dis. Child.*, 1958, **96**, 501.
195. OORT (M.), LOOS (J.), PRINS (H.). — Hereditary absence of reduced glutathione in the erythrocytes. A new clinical and biochemical entity. *Vox Sang.* (Basel), 1961, **6**, 370-373.
196. ORSINI (A.), COIGNET (J.), BADETTI (J.), JOUBERT (Y.). — Le favisme. *Sem. Hôpit. Paris*, 1961, **12**, 557-570.

197. PANIZON (F.). — Favismo diatesi idiosincrasico iperemolitica in Sardegna. *Acta paediat., lat.*, 1958, **11**, 593-619.
198. PANIZON (F.). — L'ictère grave du nouveau-né associé à une déficience en G. 6P.D. *Biol. Neonat.*, 1960, **2**, 166-177.
199. PANIZON (F.), MEO (R.). — Problemi profilattici and terapeutici di un particolare ittero grave neonatale individuata in Sardegna. *Minerva pediat.*, 1960, **12**, 145.
200. PANIZON (F.), MEO (R.). — La sindrome emorragico nell'ittero neonatale patologico con diffeto di G. 6P.D. *Acta paediat. lat.*, 1960, **13**, 51-59.
201. PANIZON (F.), PUJATTI (G.). — La glutathionemie nella crisi emolitica da favismo a nei genitori dei fabici. *St Sass*, 1957, **35**, 346.
[Citè par LARIZZA (158)].
202. PANIZON (F.), PUJATTI (G.)., Studio sul glutathione eritrocitario nel favismo. *Acta paediat. lat.*, 1958, **11**, 71-80.
203. PATTERSON (J.W.), LAZAROW (A.). — Determination of glutathione. In : *Methods of biochemical analysis*. Tome 2. New-York, Interscience Publ., 1955, p. 259.
204. PEARSON (H.A.). — Erythrocyte G. 6P.D. activity related to thyroid activity. *Amer. J. Dis. Child.*, 1960, **100**, 622.
205. PINCA (A.). — Stabilità del glutathione ridotto negli eritrociti dei bambini affetti da anemia di Cooley. *Minerva pediat.*, 1959, **11**, 988-990.
206. PISCIOTTA (A.V.), DALY (M.). — Studies on agranulocytosis III. The reduced glutathione content of leukocytes of normals and patients recovered from agranulocytosis. *Blood*, 1960, **16**, 1572-1578.
207. PITCHER (C.S.). — Enzyme deficiency in haemolytic disease of the newborn. *Lancet*, 1960, **2**, 979-980.
208. PLAUCHE (J.), DALMAIS (F.), BRIZARD (N.), PANSU (L.), STEFANI (G.). — L'anémie hémolytique due à la phénylsemicarbazide. *J. Med. Lyon*, 1957, **34**, 1.
209. POLONOWSKI (M.), BOULANGER (P.), SCHAPIRA (G.). — *Pathologie chimique*. Paris, Masson, 1952, 2 vol., 1 603 p.
210. PRANKERD (T.A.J.). — Inborn errors of metabolism in red cells in congenital hemolytic anemia. *Amer J. Med.*, 1957, **22**, 724-729.
211. RAMOT (B.), ASHKENAZI (I.), RIMON (A.), ADAM (A.), SHEBA (C.). — Activation of G. 6P.D. of enzyme deficient subjects II. Properties of the activator and the activation reaction. *J. clin. Invest.*, 1961, **40**, 611-616.
212. RAMOT (B.), FISCHER (S.), SZEINBERG (A.), ADAM (A.), SHEBA (C.), GAFNI (D.). — A study of subjects with G. 6P.D. deficiency II investigation of leucocytes enzymes. *J. clin. Invest.*, 1959, **38**, 2234-2237.
213. RAMOT (B.), SHEBA (C.), ADAM (A.), ASHKENAZI (I.). — Erythrocytes G. 6P.D. deficiency subjects: enzyme levels in saliva. *Nature*, London, 1960, **185**, 931.
214. RAMOT (B.), SZEINBERG (A.), ADAM (A.), SHEBA (C.), GAFNI (D.). — A study of subjects with erythrocyte G. 6P.D. deficiency: investigation of platelets enzymes. *J. clin. Invest.*, 1959, **38**, 1659-1661.
215. RAPPAPORT (F.), SCHEN (R.J.), RABINOVITZ (M.), EICHORN (F.), RUTENBERG (A.). — Hemolytic anemia in an Ashkenazi Jew with an enzymatic defect of the red cells. *Israel med. J.*, 1959, **18**, 259-261.
216. RAPOPORT (S.), SCHEUCH (D.). — Glutathione stability and pyrophosphatase activity reticulocytes; direct evidence for the importance of glutathione for the enzyme status in intact cells. *Nature*, London, 1960, **186**, 967-968.

217. RIMON (A.), ASKENAZI (I.), RAMOT (B.), SHEBA (C.). — Activation of G. 6P.D. of enzyme deficient subjects I. Activation by stroma of normal erythrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1960, **2**, 138-141.
218. ROSA (J.). — Déficit en G. 6P.D. et anémies hémolytiques. *Journées Pédiatriques*, 1960, p. 79-88.
219. ROSS (J.D.), DESFORGES (J.F.). — Erythrocyte G. 6P.D. activity and methemoglobin reduction. *J. Lab. clin. Med.*, 1959, **54**, 450-455.
220. ROTH (K.L.), FRUMIN (A.M.). — Studies on the hemolytic principle of the fava bean. *J. Lab. clin. Med.*, 1960, **56**, 695-700.
221. RUSSEL (J.), BLATTNER (R.). — Hemolysis of erythrocytes. *J. Pediat.*, 1959, **55**, 667-670.
222. SANSONE (G.). — Patogenesi tossica del favismo e alterazioni eritrocitarie. *Minerva med.*, 1951, **48**, 3317-3321.
223. SANSONE (G.). — Sensitivity to fava beans. *Lancet*, 1957, 273-295.
224. SANSONE (G.), PIGA (A.M.), SEGNI (G.). — *Il favismo*. Torino. Minerva med., 1958, 225 p.
225. SANSONE (G.), SEGNI (G.). — Prime determinazioni del GSH ematico nel favismo. *Boll. Soc. ital. Biol. Sper.*, 1956, **32**, 456-457.
226. SANSONE (G.), SEGNI (G.). — L'instabilità del GSH ematico nel favismo. Utilizzazione di un test selectivo. Introduzione al problema genetico. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1957, **33**, 1057-1060.
227. SANSONE (G.), SEGNI (G.). — L'anemia emolitica acuta da sulfamide e quella da P.A.S.: differenze patogenetiche. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 1556-1558.
228. SANSONE (G.), SEGNI (G.). — La genetica del favismo. *Acta Genet. med.*, suppl. II, 1959, **8**, 85-87.
229. SANSONE (G.), SEGNI (G.), DE CECCO (C.). — Il difetto biochimico eritrocitario predisponente all'emolisi favica. Prime ricerche sulla popolazione ligure e su quella sarda. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 1558-1561.
230. SANSONE (G.), TAMASSETTI-LEVI (A.). — Sui rapporti fra vitamina K idrosolubile ed anemia dell'immaturato a corpi inclusi. *Minerva pediat.*, 1957, **39**, 985-992.
231. SANSONE (G.), SEGNI (G.). — Nuovi aspetti dell'alterato biochimismo degli eritrociti di favici: assenza pressoché completa della G. 6P.D. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 327-329.
- 231 bis. SANSONE (G.), SEGNI (G.). — Difetto biochimico eritrocitario, a carattere genetico in un bambino con anemie emolitica acuta da naftaline. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 516-517.
232. SARROUY (C.), SENDRA (L.), ROMEO (R.). — Les accidents hémolytiques graves imputables à la thérapeutique par le P.A.S. A propos de six observations. *Algérie méd.*, 1954, **58**, 445-454.
233. SARTORI (E.). — Problèmes génétiques concernant une nouvelle anomalie du globule rouge et le favisme. *Acta Genet. med.*, suppl. II, 1959, **8**, 88-89.
234. SARTORI (E.). — Elementi per una teoria genetica del favismo. *Acta paediat. lat.*, 1957, **10**, 505-517.
235. SCHAFER (W.B.). — Acute hemolytic anemia with erythrocytes inclusions bodies and a defect in pigment metabolism. *Blood*, 1951, **14**, 993-1007.
236. SCHMIDT (R.), BRECHE (R.G.), CLEMENS (T.). — Familial hemolytic anemia with erythrocytes inclusions bodies and a defect in pigment metabolism. *Blood*, 1959, **14**, 993-1007.
237. SCHRIER (S.), KELLERMAYER (R.W.). — Compensatory mechanisms in primaquine sensitive erythrocytes. *J. clin. Invest.*, 1958, **37**, 928-929.

238. SCHRIER (S.), KELLERMAYER (R.-W.), CARSON (P.-E.), ALVING (A.S.). — A second enzyme abnormality in Primaquine sensitive erythrocytes. *J. Lab. clin. Med.*, 1957, **50**, 951-952.
239. SCHRIER (S.), KELLERMAYER (R.W.), CARSON (P.E.), ICKES (C.E.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: IX. Enzymatic abnormalities in Primaquine sensitive erythrocytes. *J. Lab. clin. Med.*, 1958, **52**, 109-117.
240. SCHRIER (S.), KELLERMAYER (R.-W.), CARSON (P.E.), ICKES (C.E.), ALVING (A.S.). — The hemolytic effect of Primaquine: X. Aldolase and glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase Activity in Primaquine sensitive erythrocytes. *J. Lab. clin. Med.*, 1959, **54**, 232-241.
241. SCHUMACKER (P.). — Nil nocere. Akute Phenacetin vergiftung beim Jungen Säugling. *Münch. med. Wschr.*, 1959, **101**, 1083-1088.
242. SCHWARTZ-TIENE. — Observations cliniques et sérologiques sur le favisme. *Sang.*, 1950, **21**, 221-226.
243. SCOTT (F.M.). — The relation of diaphorase of human erythrocytes to inheritance of methemoglobinemia. *J. clin. Invest.*, 1960, **39**, 1176-1179.
244. SCOTT (J.L.), HAVT (A.), CARTWRIGHT (G.E.), WINTROBE (M.M.). — Congenital hemolytic disease associated with red cell inclusion bodies, abnormal pigment metabolism and an electrophoretic hemoglobin abnormality. *Blood*, 1960, **16**, 1239-1252.
245. SEGNI (G.). — Su due casi di ittero nucleare in neonati con difetto enzimatico eritrocitario. *Minerva pediat.*, 1959, **11**, 1420-1426.
246. SEGNI (G.), DE CELLO (C.). — Comportamento del glutatone nel sangue del cordone ombelicale e del neonato. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, 1958, **34**, 1553.
247. SEGNI (G.), RAINERO (L.). — Anemia emolitica acuta da naftalina in un bambino di tre anni. Studio sul biochimismo eritrocitario. *Minerva pediat.*, 1960, **12**, 471-476.
248. SEILLE (G.), MALLASSENET (R.), CHABROL (J.). — Anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire. *Mém. Acad. Chir.*, 1960, **86**, 434-438.
249. SELWIN (J.G.), DACIE (J.V.). — Autohemolysis and other changes resulting from the incubation in vitro of red cells from patients with congenital hemolytic anemia. *Blood*, 1954, **9**, 414-438.
250. SEMELAIGNE (G.), HUREZ, LEVERQUE, FIESSINGER. — Anémie hémolytique aiguë chez 2 enfants traités avec le PAS ascorbique soluble. *Sem. Hôp. Paris*, 1950, **26**, 3021.
251. SHAHIDI (T.), DIAMOND (L.). — Enzyme deficiency in erythrocytes in congenital non spherocytic anemia. *Pediatrics*, 1959, **24**, 245-252.
252. SILUETTI (M.). — Modificazioni dell' aldolasi eritrocitarie e loro significato nelle talassemie a rei portatori eterozigoti del caratter. *Ann. ital. Pediat* 1959, **12**, 462-473.
253. SINISCALO (M.), BERNINI (L.), LATTE (B.), MOTULSKY (A.G.). — Favism and thalassaemia in Sardinia and their relationship to malaria. *Nature, London*, 1961, **190**, 1179-1180.
254. SMITH (R.S.), ALEXANDER (S.). — Heinz body anaemia due to dapsone. *Brit. Med. J.*, 1959, **1**, 625.
255. SMITH (G.W.), VELLA (F.). — Erythrocyte enzyme deficiency in unexplained kernicterus. *Lancet*, 1960, **1**, 1133.
256. SONKA (J.), DUBOUSKY (J.), SCHREIBER (V.), PALEK (J.). — Cortisone and the oxydative cycle of glucose 6 phosphate in erythrocytes of normal and adrenalectomized rats. *Vnitřní Lek.*, 1957, **13**, 253-257. [Analyse in: *Blood*, 1959, **14**, 1073].
257. SONNET (J.), MICHAUX (J.L.). — G. 6P.D. deficiency, haptoglobin groups, blood groups and sickle cell trait in the bantus of West Belgian Congo. *Nature, London*, 1960, **188**, 504-505.

258. SONNET (J.), VANDEPITT (J.), HAUMONT (A.). — Anémie hémolytique par la nitrofurazone révélatrice d'une déficience globulaire en G. 6P.D. *Ann. Soc. belg. Med. trop.*, 1959, **39**, 691-701.
259. SPRIGGS (A.I.), SMITH (R.S.), GRIFFITH (H.), TRUELOVE (S.L.). — Heinz body anemia due to salicylazosulphapyridine. *Lancet*, 1958, **1**, 1039-1041.
260. STERNDAL (H.). — Acute haemolytic anemia following sulphadimidine therapy. *Brit. Med. J.*, 1956, **2**, 1101-102.
261. STEVENSON (R.D.), BERDENIA (L.M.), ROSTON (S.). — Colorimetric method for determination of erythrocyte glutathione. *J. Lab. clin. Med.*, 1960, **56**, 157-160.
262. SWANTZ (H.-E.), BAYLISS (M.). — Hemoglobinuria: report of 10 cases of its occurrence in Negroes during convalescence from malaria. *War. Med.*, 1947, **7**, 104-107.
263. SWARUP (S.), GHOSH (S.), CHATTERJEA (J.). — Stability of erythrocyte GSH in normal Indians. *Bull. Calcutta School trop. Med.*, 1961, **9**, 7. [Analyse in: *Blood*, 1961, **18**, 124].
264. SWARUP (S.), GHOSH (S.), CHATTERSEA (J.). — GSH stability in haemoglobin E - thalassaemia disease. *Nature*, London, 1960, **188**, 153.
265. SZEINBERG (A.), ADAM (A.), RAMOT (B.), SHEBA (C.), MYERS (F.). — The incorporation of isotopically labelled glycine into glutathione of erythrocytes with G. 6P.D. deficiency. *Bioch. Biophys. Acta*, 1959, **36**, 65-73.
266. SZEINBERG (A.), ASHER (Y.), SHEBA (C.). — Studies of glutathione stability in erythrocytes of cases with past history of favism or sulfa-drug-induced hemolysis. *Blood*, 1958, **13**, 348-358.
267. SZEINBERG (A.), CHARI-BITROU (A.). — Blood glutathione concentration in cases with past history of hemolytic anemia due to vicia faba or sulphonamides. *Acta haemat.*, 1957, **18**, 229-233.
268. SZEINBERG (A.), KELERMANN (J.), ADAM (A.), SHEBA (C.), RAMOT (B.). — Haemolytic jaundice following aspirin administration to a patient with a deficiency of G. 6P.D. in erythrocytes. *Acta haemat.*, 1960, **23**, 58-64.
269. SZEINBERG (A.), MARKS (P.A.). — Substances stimulating glucose catabolism by the oxydative reaction of the pentose phosphate pathway in human erythrocytes. *J. clin. Invest.*, 1961, **40**, 914-924.
270. SZEINBERG (A.), RAMOT (B.), ADAM (A.), SHEBA (C.). — Glutathione metabolism in cord blood and in the newborn infant. *Amer. J. Dis. Child.*, 1958, **96**, 542.
271. SZEINBERG (A.), RAMOT (B.), SHEBA (C.), ADAM (A.), HALBRECHT, RIKOVER (M.), WISHNIERSKY, RABAU. — Glutathione metabolism in cord and newborn infant blood. *J. clin. Invest.*, 1958, **37**, 1436-1441.
272. SZEINBERG (A.), SHEBA (C.), ADAM (A.). — Selective occurrence of glutathione instability, in red blood corpuscles of the various Jewish tribes. *Blood*, 1958, **13**, 1043-1053.
273. SZEINBERG (A.), SHEBA (C.), ADAM (A.). — Enzymatic abnormality in erythrocytes of a population sensible to vicia faba or drug induced hemolytic anemia. *Nature* (London), 1958, **181**, 1256.
274. SZEINBERG (A.), SHEBA (C.), ADAM (A.), RAMOT (B.). — A hereditary abnormality of the metabolism of glutathione in the red blood cells. *Acta Genet. med. suppl.* II, 1959, **8**, 151-157.
275. SZEINBERG (A.), SHEBA (C.), HIRSCHORN (N.), BODONY (E.). — Chemical studies on erythrocytes in cases of haemolytic anemia. *Bull. Res-Counc. Israël*, 1957, **6**, 115-118.
276. SZEINBERG (A.), SHEBA (C.), ADAM (A.). — Blood glutathione level and his stability in splenectomized patients. *Lancet*, 1958, **8**, 1134.

277. SZEINBERG (A.), SHEBA (C.), HIRSCHORN (N.), BODONY (E.). — Studies on erythrocytes in cases with past history of favism and drug induced acute hemolytic anemia. *Blood*, 1957, **12**, 603-613.
278. TANNENBAUM (M.), YI-YUNG-HSIA (D.). — Relationship of galactose 1 phosphate uridyl transferase to G. 6P.D. in red blood cells. *Amer. J. Dis. Child.*, 1960, **100**, 637-638.
279. TARLOV (A.R.), KELLERMAYER (R.W.). — Decreased catalase activity in Primaquine sensitive erythrocytes. *Fed. Proc.*, 1958, **18**, 156.
280. TARLOV (A.R.), KELLERMAYER (R.W.). — The hemolytic effect of Primaquine XI. Decreased catalase activity Primaquine sensitive erythrocytes. *J. Lab. clin. Med.*, 1961, **58**, 204-216.
281. DE TONI (G.). — Le anemie emolitiche enzimatiche dell'infanzia. *Minerva med.*, 1961, **52**, 1701-1706.
282. TONZ (O.), MEREU (T.), KASER (H.). — Familiäre, nicht sphärocytäre haemolytische anemie mit porphyrinurie. *Ann. Paediat. (Basel)*, 1961, **196**, 300.
283. TOWNES (P.-L.). — Variant of hereditary methemoglobinemia. *Amer. J. Dis. Child.*, 1961, **102**, 515-516.
284. VANDEPITTE (J.), DELAISSE (J.). — Sicklémie et Paludisme. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1957, **37**, 703-735.
285. VARADI (S.), HURWORTH (E.). — Heinz Body anemia in the newborn. *Brit. Med. J.*, 1957, **1**, 315-318.
286. VELLA (F.). — Erythrocyte G. 6P.D. deficiency and thalassemia. *Experientia*, 1960, **16**, 284-285.
287. VERAS (S.). — Considerations sur 73 cas de Favisme. *Arch. franç Pédiat.*, 1961, **18**, 345-351.
288. VULLO (C.), PANIZON (F.). — The mechanism of haemolysis in favism; transfusion experiments with Cr⁵¹ tagged erythrocytes. *Acta haemat.*, 1959, **22**, 146-152.
289. WALKER (D.G.), BOWMAN (J.-E.). — Glutathione stability of the erythrocytes in Iranians. *Nature, London*, 1959, **184**, 1325.
290. WALKER (D.G.), BOWMAN (J.E.). — In vitro effect of vicia faba extracts upon GSH of erythrocytes. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1960, **103**, 476-477.
291. WALKER (H.D.), LÖHR (G.H.), TABATABAI (M.). — Hämolyse und Fehlen von G. 6P.D in roten Blutzellen (eine Fermentanomalie den erythrocyten). *Klin. Wschr.*, 1957, **35**, 1022-1027.
292. WEATHERWAHL (D.J.). — Enzyme deficiency in haemolytic disease of the newborn. *Lancet*, 1960, **2**, 835.
293. WEED (R.), EBER (J.), ROTHSTEIN (A.). — Effects of Primaquine and other related compounds on the red blood cell membrane. *J. clin. Invest.*, 1961, **40**, 130-139.
294. WEST (M.), ZIMMERMANN (H.J.). — Hemolytic anemia in patient receiving nitrofurantoin (Furadantin). *J. A. med. Ass.*, 1956, **162**, 637-639.
295. WILLI (H.). — Synkavit Schädigung beim Frühgeborenen. *Helv. paediat. Acta*, 1956, **11**, 325-334.
296. WILLI (H.), VEST (M.), KASER (O.). — Das hämatologische Verhalten der Frühgeborenen unter der Einwirkung höher und niederer Dosen von vitamine K1 (konakion). *Gynaecologia*, 1959, **147**, 481-492.
297. WONG HOCK BOON. — Kernicterus not associated with haemolytic disease. *Arch. Dis. Child.*, 1957, **32**, 85-90.
298. WOOD (B.W.). — Anemia during sulfanilamide therapy. *J. A. med. Ass.*, 1938, **111**, 1916-1919.
299. WURZEL (H.), Mc CREARY (T.), BAKER (L.), GUMERMAN (L.). — G. 6P.D. activity in platelets. *Blood*, 1961, **17**, 314-318.
300. YI-YUNG-HSIA (D.). — Deficiency of G. 6P.D. In: *Inborn errors of metabolism*. Chicago, Year book publ., 1959, pp. 201-220.

301. ZANNOS (L.), KATTAMIS (C.). — G. 6P.D. deficiency in Grèce. *Blood*, 1961, **18**, 24-47.
 302. ZINKHAM (W.H.). — An in vitro abnormality of glutathione metabolism in erythrocyte from normal newborns. *Pediatrics*, 1959, **23**, 18-32.
 303. ZINKHAM (W.H.). — Enzymes studies on lenses from persons with Primaquine sensitive erythrocytes. *Amer. J. Dis. Child.*, 1960, **100**, 525-526.
 304. ZINKHAM (W.H.), CHILDS (B.). — Effect of naphthalene derivatives on glutathione metabolism of erythrocytes from patients with naphthalène hemolytic anemia. *J. clin. Invest.*, 1957, **36**, 938-939.
 305. ZINKHAM (W.H.), CHILDS (B.). — Effect of vitamin K and naphthalene metabolites on glutathione metabolism of erythrocytes from normal newborn and patients with naphthalene hemolytic anemia. *Amer. J. Dis. Child.*, 1957, **94**, 420-423.
 306. ZINKHAM (W.H.), CHILDS (B.). — A defect of glutathione metabolism in erythrocytes from patients with a naphthalene induced hemolytic anemia. *Pediatrics*, 1958, **22**, 461-471.
 307. ZINKHAM (W.H.), LENHARD (R.E.), CHILDS (B.). — A deficiency of G. 6P.D. activity in erythrocytes from patients with favism. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1958, **102**, 169-175.
 308. ZINKHAM (W.H.), LENHARD (Jr R.E.). — Metabolism abnormality of erythrocytes from patients with congenital non spherocytic hemolytic anemia. *J. Pediat.*, 1959, **55**, 319-336.
 309. ZUELZER (W.W.), APT (L.). — Acute hemolytic anemia due to naphthalene poisoning. *J. A. med. Ass.*, 1949, **141**, 185-190.
 310. ZUELZER (W.W.), APT (L.). — Discussion of paper by Zinkham and Childs. *Amer. J. Dis. Child.*, 1957, **94**, 421-422.
-

TABLE DES MATIÈRES

	PAGES
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE	
REVUE GENERALE	
CHAPITRE I. — L'ANÉMIE HÉMOLYTIQUE PROVOQUÉE PAR LA PRIMA- QUINE	5
1) <i>Introduction et historique</i>	5
2) <i>Etude de l'hémolyse</i>	6
A. Description de l'hémolyse	6
B. Effet de la dose	7
C. Etudes cytologiques	7
D. Etudes avec des hématies marquées	7
3) <i>Critères de sensibilité</i>	8
A. Le test des corps de Heinz	8
B. Le taux de GSH	10
C. Le test de stabilité	12
D. Le déficit enzymatique	12
E. Le déficit en catalase	17
CHAPITRE II. — AUTRES ANÉMIES HÉMOLYTIQUES PROVOQUÉES PAR DES MÉDICAMENTS, CHEZ DES SUJETS ENZYMOPÉNIQUES	19
— Les Antipaludéens	20
— Les Sulfamides	21
— Les Sulfones	22
Acétalinde et Phénacétine	22
— Phénylhydrazine et cryogénine	23
— P. A. S.	24
— Aspirine	24
— Naphtalène	24
— Vitamine K ₂	25
— Choramphenicol, etc... ..	25

	PAGES
CHAPITRE III. — ANÉMIES HÉMOLYTIQUES PROVOQUÉES PAR DES SUBSTANCES VÉGÉTALES CHEZ LES SUJETS ENZYMOPÉNIQUES	28
1) <i>Le favisme</i>	29
A. Description clinique	29
B. Etiologie	30
C. Pathogénie	31
D. Étude génétique	36
2) <i>Autres substances végétales</i>	38
CHAPITRE IV. — LE NOUVEAU-NÉ ET LE NOURRISSON	40
1) <i>Instabilité transitoire du GSH et anémie à corps de Heinz du prématuré</i>	40
2) <i>Les ictères néonataux dus au déficit en G. 6P.D.</i>	44
A. Ictères hémolytiques d'origine médicamenteuse	44
B. Ictères, première manifestation d'une anémie hémolytique congénitale non sphérocytaire	46
C. Ictères d'origine non médicamenteuse	46
CHAPITRE V. — LES ANÉMIES HÉMOLYTIQUES CONGÉNITALES NON SPHÉROCYTAIRES, DUES AU DÉFICIT EN G. 6P.D.	50
CHAPITRE VI. — ETIOLOGIE	55
1) Distribution géographique des porteurs de la tare	55
2) Mode de transmisison de la tare	56
3) Comment la tare a-t-elle pu se transmettre jusqu'à nos jours?	62
4) Conclusion	67
CHAPITRE VII. — PATHOGÉNIE	69
1) <i>Mode d'action du gène</i>	69
A. Chez le sujet normal	69
B. Chez le sujet enzymopénique	69
2) <i>Mode d'action du déficit enzymatique</i>	76
A. En dehors de toute agression médicamenteuse	76
B. En cas d'agression médicamenteuse	76
C. Rôle du déficit en catalase	78
D. Conclusion	78

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

	PAGES
CHAPITRE I. — MÉTHODES DE DOSAGE	83
1) <i>Principes</i>	83
2) <i>Méthodes utilisées</i>	83
3) <i>Test de stabilité du G.S.H.</i>	91
4) <i>Causes d'erreur</i>	92
5) <i>Conclusion</i>	94
CHAPITRE II. — ETUDE DES SUJETS EN BONNE SANTÉ	95
1) <i>Influence de l'âge</i>	95
2) <i>Influence du sexe</i>	101
3) <i>Influence de l'origine raciale</i>	101
4) <i>Conclusion</i>	103
CHAPITRE III. — ETUDE DES SUJETS PATHOLOGIQUES	104
1) <i>Anémies</i>	104
— Anémies hémolytiques d'origine végétale	104
- Favisme	104
- Fausses Morilles	106
— Anémies aiguës d'étiologie connue	106
— Anémies aiguës d'étiologie inconnue	107
- Prématurés	107
- Nouveau-nés à terme	107
- Nourrissons	107
— Anémies hémolytiques congénitales	108
- Minkowski - Chauffard	108
- Hémoglobinoses: Thalassémie majeure	108
- Elliptocytose	109
- Hémoglobinurie paroxystique à frigore	109
- Anémies hémolytiques congénitales non sphérocy- taires	109
— Anémie de Blackfan - Diamond	113
— Anémies ferriprives	113
- Nourrissons	113
- Adultes	113
— Pancytopénie	114
2) <i>Ictères Néonataux</i> (de diagnostic difficile)	114
3) <i>Méthémoglobinémie Congénitale</i>	116
4) <i>Autres cas étudiés</i>	121
CONCLUSION	122

Vu :

Nancy, le 25 novembre 1961.

Le Président de Thèse,

Signé: NEIMANN.

VU ET APPROUVÉ :

Nancy, le 28 novembre 1961.

Le Doyen,

Signé: A. BEAU.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Nancy, le 29 novembre 1961.

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université,

Signé: P. IMBS.

Imprimerie Georges Thomas - Nancy.

Dépôt légal III-1962 - N° 595

